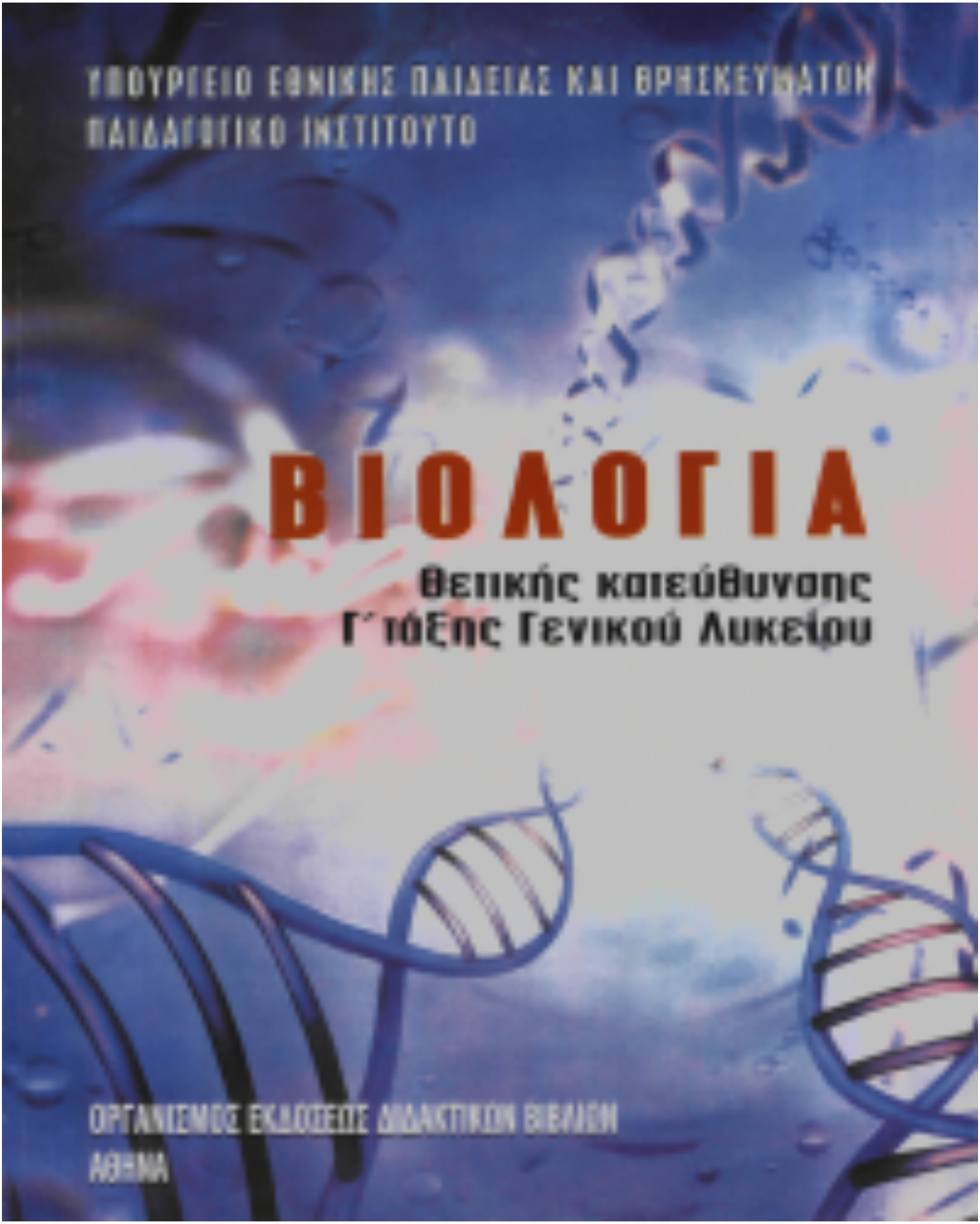


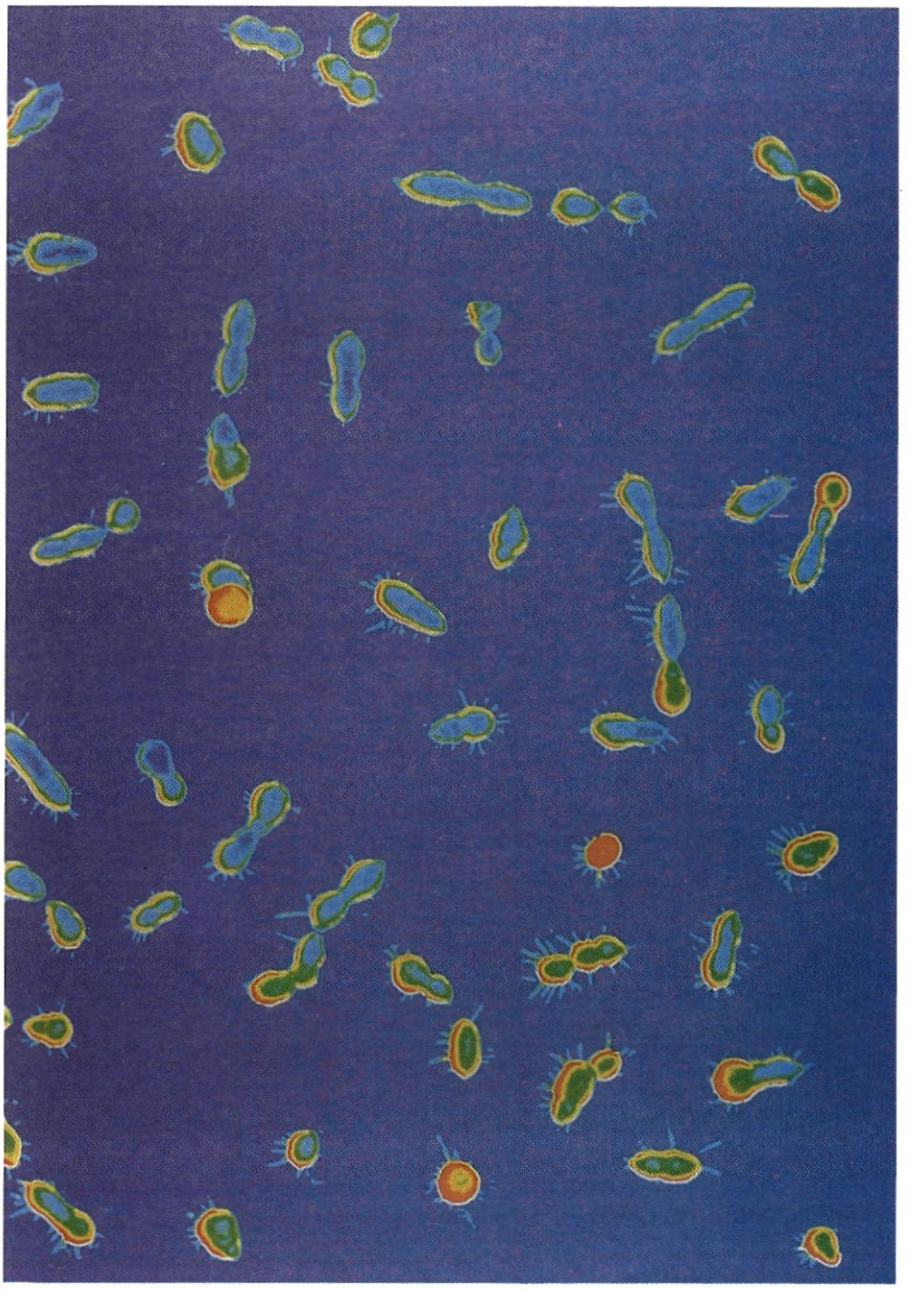
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΕΘΝΙΚΗΣ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΠΑΙΔΑΓΩΓΙΚΟ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ

ΒΙΟΛΟΓΙΑ

Θετικής κατεύθυνσης
Γ΄ τάξης Γενικού Λυκείου

ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ ΕΚΔΟΣΕΩΣ ΔΙΔΑΚΤΙΚΩΝ ΒΙΒΛΙΩΝ
ΑΘΗΝΑ

Το γενετικό υλικό



Πνευμονιόκοκκοι (*Diploccoccus pneumoniae*)
Φωτογραφία από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο σάρωσης

κεφάλαιο

1

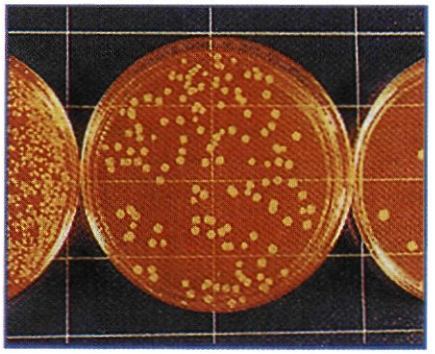
1. Το γενετικό υλικό

Το DNA είναι το γενετικό υλικό

Παρ' όλο που το DNA εντοπίστηκε στον πυρήνα των κυττάρων το 1869, έως και το 1944 δεν ήταν γνωστό ότι αποτελεί το γενετικό υλικό των οργανισμών. Οι επιστήμονες πίστευαν ότι τα μόρια που μεταφέρουν τη γενετική πληροφορία είναι οι πρωτεΐνες, που παρουσιάζουν μεγαλύτερη ποικιλομορφία, επειδή είναι αποτέλεσμα συνδυασμού είκοσι διαφορετικών αμινοξέων, ενώ το DNA είναι συνδυασμός τεσσάρων μόνο νουκλεοτιδίων!

Το 1928 ο Griffith χρησιμοποίησε δύο στελέχη του βακτηρίου πνευμονιόκοκκος (*Diplococcus pneumoniae*), τα οποία ξεχωρίζουν μορφολογικά, όταν καλλιεργηθούν σε θρεπτικό υλικό, λόγω της παρουσίας ή μη ενός προστατευτικού καλύμματος. Το στέλεχος που είχε κάλυμμα σχημάτιζε λείες αποικίες και ήταν παθογόνο, δηλαδή σκότωνε τα ποντίκια που μόλυνε, ενώ εκείνο που δεν είχε κάλυμμα σχημάτιζε αδρές αποικίες και δεν ήταν παθογόνο.

*Μία **αποικία** είναι ένα σύνολο από μικροοργανισμούς, που έχουν προέλθει από διαδοχικές διαιρέσεις ενός κυττάρου, όταν αυτό αναπτύσσεται σε στερεό θρεπτικό υλικό. Οι αποικίες είναι ορατές με γυμνό οφθαλμό.*

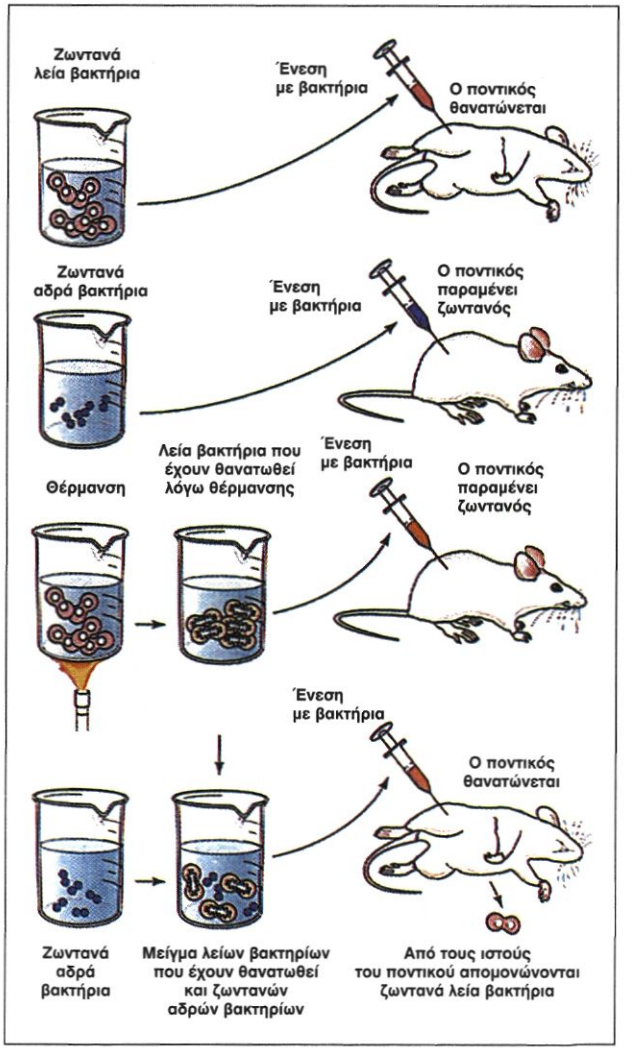


Ο Griffith χρησιμοποίησε υψηλή θερμοκρασία, για να σκοτώσει τα λεία βακτήρια και με αυτά μόλυνε ποντικούς, οι οποίοι παρέμεναν ζωντανοί. Όταν όμως ανέμειξε νεκρά λεία βακτήρια με ζωντανά αδρά και με το μείγμα μόλυνε ποντικούς, τότε αυτοί πέθαναν. Στο αίμα των νεκρών ποντικών βρέθηκαν ζωντανά λεία βακτήρια. Ο Griffith συμπέρανε ότι μερικά αδρά βακτήρια «μετασχηματίστηκαν» σε λεία παθογόνα ύστερα από αλληλεπίδραση με τα νεκρά λεία βακτήρια, αλλά δεν μπόρεσε να δώσει ικανοποιητική απάντηση για το πώς γίνεται αυτό (Εικόνα 1.1).

Η απάντηση δόθηκε το 1944, όταν οι Avery, Mac-Leod και McCarty επανέλαβαν τα πειράματα του Griffith *in vitro*. Οι ερευνητές διαχώρισαν τα συστατικά των νεκρών λείων βακτηρίων σε υδατάνθρακες, πρωτεΐνες, λιπίδια, RNA, DNA κτλ. και έλεγξαν ποιο από αυτά είχε την ικανότητα μετασχηματισμού. Διαπίστωσαν ότι το συστατικό που προκαλούσε το μετασχηματισμό των αδρών βακτηρίων σε λεία ήταν το DNA. Την ίδια εποχή υπήρχαν πολλά βιοχημικά δεδομένα που υποστήριζαν ότι το DNA είναι το γενετικό υλικό.

- Η ποσότητα του DNA σε κάθε οργανισμό είναι σταθερή και δε μεταβάλλεται από αλλαγές στο περιβάλλον. Η

Εικόνα 1.1 Τα πειράματα του Griffith έδειξαν ότι ένας «ειδικός παράγοντας» που υπάρχει στα παθογόνα βακτήρια μετασχηματίζει τα μη παθογόνα σε παθογόνα ακόμη και αν τα παθογόνα βακτήρια έχουν σκοτωθεί λόγω θέρμανσης.



ποσότητα του DNA είναι επίσης ίδια σε όλα τα είδη κυττάρων ενός οργανισμού όπως στην περίπτωση του ανθρώπου σε αυτά του σπλήνα, της καρδιάς, του ήπατος κτλ.

- Οι γαμέτες των ανώτερων οργανισμών, που είναι απλοειδείς, περιέχουν τη μισή ποσότητα DNA από τα σωματικά κύτταρα, που είναι διπλοειδή.
- Η ποσότητα του DNA είναι, κατά κανόνα, ανάλογη με την πολυπλοκότητα του οργανισμού. Συνήθως, όσο εξελικτικά ανώτερος είναι ο οργανισμός τόσο περισσότερο DNA περιέχει σε κάθε κύτταρό του.

Η οριστική επιβεβαίωση ότι το DNA είναι το γενετικό υλικό ήλθε το 1952 με τα κλασικά πειράματα των Hershey και Chase οι οποίοι μελέτησαν τον κύκλο ζωής του βακτηριοφάγου (φάγου) T_2. Οι ερευνητές ιχνηθέτησαν τους φάγους με ραδιενεργό ^{35}S, που ενσωματώνεται μόνο στις πρωτεΐνες αλλά όχι στο DNA, και με ραδιενεργό ^{32}P, που ενσωματώνεται μόνο στο DNA και όχι στις πρωτεΐνες. Στη συνέχεια με ραδιενεργούς φάγους μόλυναν βακτήρια. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι μόνο το DNA των φάγων εισέρχεται στα βακτηριακά κύτταρα και είναι ικανό να «δώσει τις απαραίτητες εντολές», για να πολλαπλασιαστούν και να παραχθούν οι νέοι φάγοι.

*Η έκφραση **in vivo** χρησιμοποιείται για την περιγραφή μιας βιολογικής διαδικασίας όταν αυτή πραγματοποιείται σε ένα ζωντανό οργανισμό.*

*Η έκφραση **in vitro** χρησιμοποιείται για την περιγραφή μιας βιολογικής διαδικασίας όταν αυτή πραγματοποιείται στο δοκιμαστικό σωλήνα.*

*Ένα τυπικό **in vivo** παράδειγμα είναι η απόδειξη του ημισυντηρητικού μηχανισμού της αντιγραφής του DNA. Αντίστοιχο **in vitro** παράδειγμα είναι η ανάλυση των ενζύμων της αντιγραφής του DNA.*

***Ιχνηθέτηση**. Είναι η σήμανση χημικών μορίων με τη χρήση ραδιενεργών ισοτόπων, φθοριζουσών ουσιών, κτλ. Ένα τυπικό παράδειγμα είναι η χρήση ραδιενεργού φωσφόρου ^{32}P στα νουκλεοτίδια για την ιχνηθέτηση του DNA.*

Ταξίδι στο χρόνο

1869 Απομονώνεται DNA από τον κυτταρικό πυρήνα.

1903 Αποδεικνύεται ότι τα χρωμοσώματα είναι φορείς του κληρονομικού (γενετικού) υλικού.

1944 Αποδεικνύεται ότι το DNA είναι το γενετικό υλικό.

1953 Ανακαλύπτεται η δομή της διπλής έλικας του DNA.

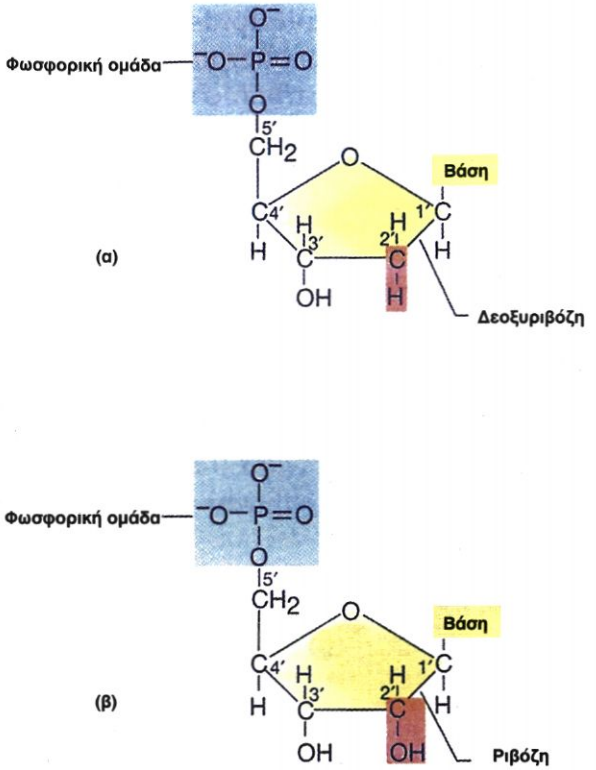
Το DNA αποτελείται από νουκλεοτίδια, που ενώνονται με φωσφοδιεστερικό δεσμό

Το DNA, όπως και το RNA, είναι ένα μακρομόριο, που αποτελείται από **νουκλεοτίδια**. Κάθε νουκλεοτίδιο του DNA αποτελείται από μία πεντόζη, τη δεοξυριβόζη, ενωμένη με μία φωσφορική ομάδα και μία αζωτούχο βάση (Εικόνα 1.2). Στα νουκλεοτίδια του DNA η αζωτούχος βάση μπορεί να είναι μία από τις: αδενίνη (A), γουανίνη (G), κυτοσίνη (C) και θυμίνη (T) (Εικόνα 1.3). Σε κάθε νουκλεοτίδιο η αζωτούχος βάση συνδέεται με τον 1′ άνθρακα της δεοξυριβόζης και η φωσφορική ομάδα με τον 5′ άνθρακα. Μια **πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα** σχηματίζεται από την ένωση πολλών νουκλεοτιδίων με ομοιοπολικό δεσμό. Ο δεσμός αυτός δημιουργείται μεταξύ του υδροξυλίου του 3′ άνθρακα της πεντόζης του πρώτου νουκλεοτιδίου και της φωσφορικής ομάδας που είναι συνδεδεμένη στον 5′ άνθρακα της πεντόζης του επόμενου νουκλεοτιδίου. Ο δεσμός αυτός ονομάζεται 3′-5′ **φωσφοδιεστερικός δεσμός**. Με τον τρόπο αυτό η πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα που δημιουργείται έχει ένα σκελετό, που αποτελείται από επανάληψη των μορίων φωσφορική ομάδα-πεντόζη-φωσφορική ομάδα-πεντόζη. Ανεξάρτητα από τον αριθμό των νουκλεοτιδίων από τα οποία αποτελείται η πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα, το πρώτο της νουκλεοτίδιο έχει πάντα μία ελεύθερη φωσφορική ομάδα συνδεδεμένη στον 5′ άνθρακα της πεντόζης του και το τελευταίο νουκλεοτίδιό της έχει ελεύθερο το υδροξύλιο του 3′ άνθρακα της πεντόζης του (Εικόνα 1.5). Για το λόγο αυτό αναφέρεται ότι ο προσανατολισμός της πολυνουκλεοτιδικής αλυσίδας είναι 5′→3′ (Εικόνα 1.4).

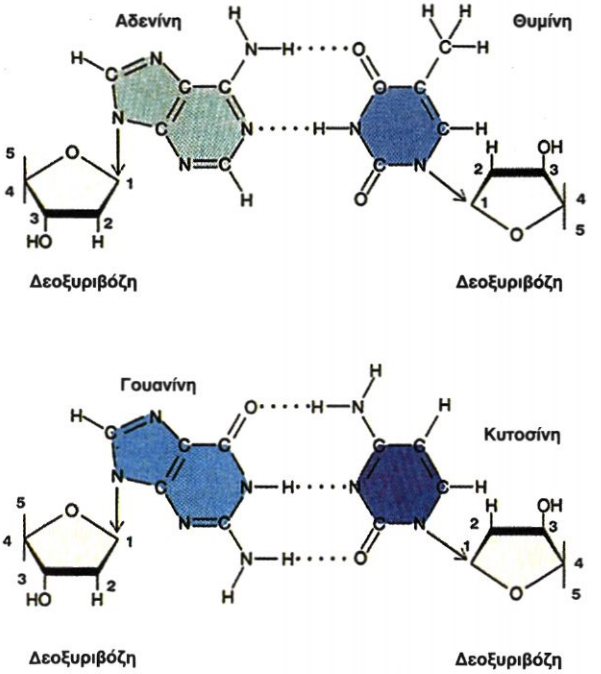
Η ανακάλυψη της διπλής έλικας του DNA είναι η μεγαλύτερη βιολογική ανακάλυψη του 20ού αιώνα

Παρ' ότι η χημική σύσταση και οι ιδιότητες του DNA, με τα πειράματα που αναφέρθηκαν πιο πάνω, είχαν γίνει γνωστά, δεν υπήρχε κοινά αποδεκτή πρόταση για τη δομή του DNA στο χώρο. Δεδομένα από την ανάλυση του ποσοστού των βάσεων σε μόρια DNA από διαφορετικούς οργανισμούς έδειχναν ότι σε κάθε μόριο DNA ο αριθμός των νουκλεοτιδίων που έχουν ως βάση την αδενίνη είναι ίσος με τον αριθμό των νουκλεοτιδίων που έχουν θυμίνη, και ο αριθμός των νουκλεοτιδίων που έχουν ως βάση τη γουανίνη είναι ίσος με τον αριθμό αυτών που έχουν κυτοσίνη. Δηλαδή ισχύει A=T και G=C. Επίσης, βρέθηκε ότι η αναλογία των βάσεων [(A+T)/(G+C)] διαφέρει από είδος σε είδος και σχετίζεται με το είδος του οργανισμού. Τα αποτελέσματα αυτά σε συνδυασμό με αποτελέσματα που αφορούσαν την απεικόνιση του μορίου του DNA με χρήση

Εικόνα 1.2 Νουκλεοτίδιο του DNA (α) και του RNA (β).



Εικόνα 1.3 Οι τέσσερις αζωτούχες βάσεις του DNA. Η αδενίνη συνδέεται με τη θυμίνη με δύο δεσμούς υδρογόνου και η γουανίνη συνδέεται με την κυτοσίνη με τρεις δεσμούς υδρογόνου.

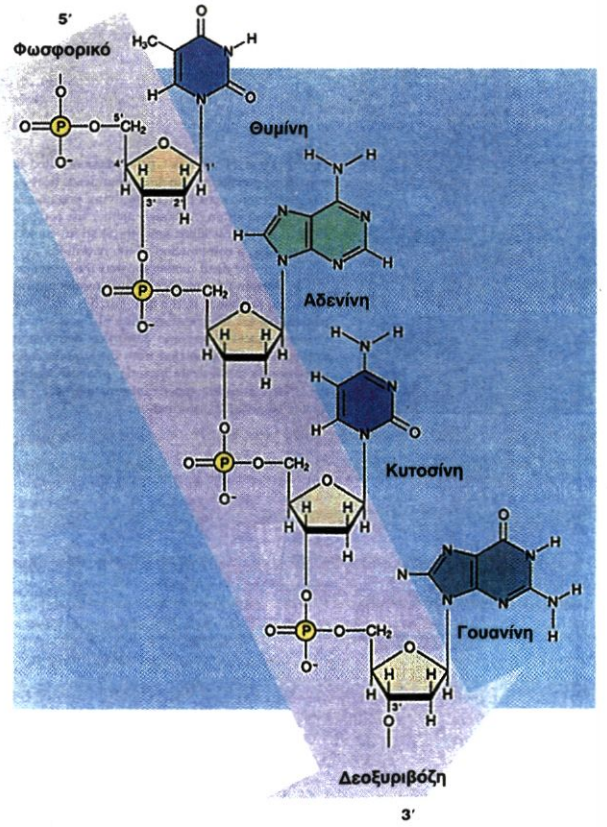


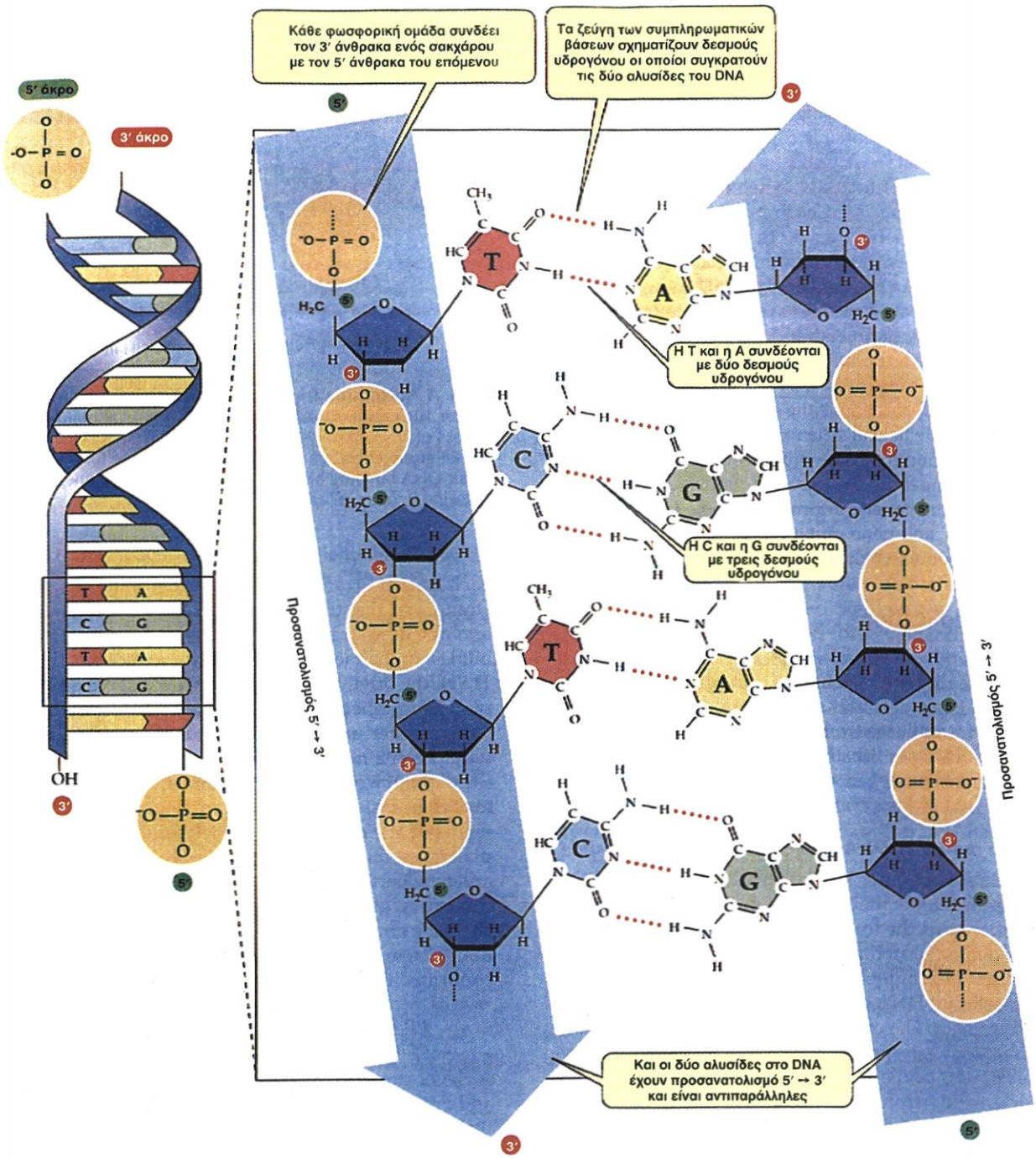
ακτίνων-Χ βοήθησαν στην ανακάλυψη της διπλής έλικας του DNA και απέδειξαν τις μοναδικές ιδιότητές του που το καθιστούν μόριο ιδανικό ως γενετικό υλικό. Η ανακάλυψη της διπλής έλικας του DNA είναι η μεγαλύτερη βιολογική ανακάλυψη του 20ού αιώνα. Έγινε το 1953 και ήταν το αποτέλεσμα της ερευνητικής εργασίας δύο ομάδων επιστημόνων: των Wilkins και Franklin καθώς και των Watson και Crick. Στηριζόμενοι στο σύνολο των αποτελεσμάτων των δύο ομάδων οι Watson και Crick διατύπωσαν το μοντέλο της **διπλής έλικας του DNA**, που αναφέρεται στη δομή του DNA στο χώρο (Εικόνα 1.5).

Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό:

- Το DNA αποτελείται από δύο πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες που σχηματίζουν στο χώρο μία δεξιόστροφη διπλή έλικα.
- Η διπλή έλικα έχει ένα σταθερό σκελετό, που αποτελείται από επαναλαμβανόμενα μόρια φωσφορικής ομάδας-δεοξυριβόζης ενωμένων με φωσφοδιεστερικό δεσμό. Ο σκελετός αυτός είναι υδρόφιλος και βρίσκεται στο εξωτερικό του μορίου. Προς το εσωτερικό του σταθερού αυτού σκελετού βρίσκονται οι αζωτούχες βάσεις που είναι υδρόφοβες.

Εικόνα 1.4 Το βέλος δείχνει τον φωσφοδιεστερικό σκελετό με προσανατολισμό 5′→3′.





Εικόνα 1.5 Δίκλωνη έλικα του DNA.

- Οι αζωτούχες βάσεις της μιας αλυσίδας συνδέονται με δεσμούς υδρογόνου με τις αζωτούχες βάσεις της απέναντι αλυσίδας με βάση τον κανόνα της συμπληρωματικότητας. Η αδενίνη συνδέεται μόνο με θυμίνη και αντίστροφα, ενώ η κυτοσίνη μόνο με γουανίνη και αντίστροφα. Οι δεσμοί υδρογόνου που αναπτύσσονται μεταξύ των βάσεων σταθεροποιούν τη δευτεροταγή δομή του μορίου.
- Ανάμεσα στην αδενίνη και τη θυμίνη σχηματίζονται δύο δεσμοί υδρογόνου, ενώ ανάμεσα στη γουανίνη και την κυτοσίνη σχηματίζονται τρεις δεσμοί υδρογόνου.
- Οι δύο αλυσίδες ενός μορίου DNA είναι συμπληρωματικές, και αυτό υποδηλώνει ότι η αλληλουχία της μιας καθορίζει την αλληλουχία της άλλης. Η συμπληρωματικότητα έχει τεράστια σημασία για τον αυτοδιπλασιασμό

του DNA, μια ιδιότητα που το καθιστά το καταλληλότερο μόριο για τη διατήρηση και τη μεταβίβαση της γενετικής πληροφορίας. Κάθε αλυσίδα DNA μπορεί να χρησιμεύει ως καλούπι για τη σύνθεση μιας συμπληρωματικής αλυσίδας, ώστε τελικά να σχηματίζονται δύο δίκλωνα μόρια DNA πανομοιότυπα με το μητρικό μόριο.

- Οι δύο αλυσίδες είναι αντιπαράλληλες, δηλαδή το 3′ άκρο της μίας είναι απέναντι από το 5′ άκρο της άλλης.

Το γενετικό υλικό ελέγχει όλες τις λειτουργίες του κυττάρου

Το DNA αποτελεί το γενετικό υλικό όλων των κυττάρων και των περισσότερων ιών. Κάποιοι ιοί έχουν ως γενετικό υλικό RNA (RNA-ιοί).

Συνοπτικά οι λειτουργίες του γενετικού υλικού είναι:

- **Η αποθήκευση** της γενετικής πληροφορίας. Στο DNA (ή στο RNA των RNA ιών) περιέχονται οι πληροφορίες που καθορίζουν όλα τα χαρακτηριστικά ενός οργανισμού και οι οποίες οργανώνονται σε λειτουργικές μονάδες, **τα γονίδια**.
- **Η διατήρηση** και η μεταβίβαση της γενετικής πληροφορίας από κύτταρο σε κύτταρο και από οργανισμό σε οργανισμό, που εξασφαλίζονται με τον αυτοδιπλασιασμό του DNA.
- **Η έκφραση** των γενετικών πληροφοριών, που επιτυγχάνεται με τον έλεγχο της σύνθεσης των πρωτεϊνών.

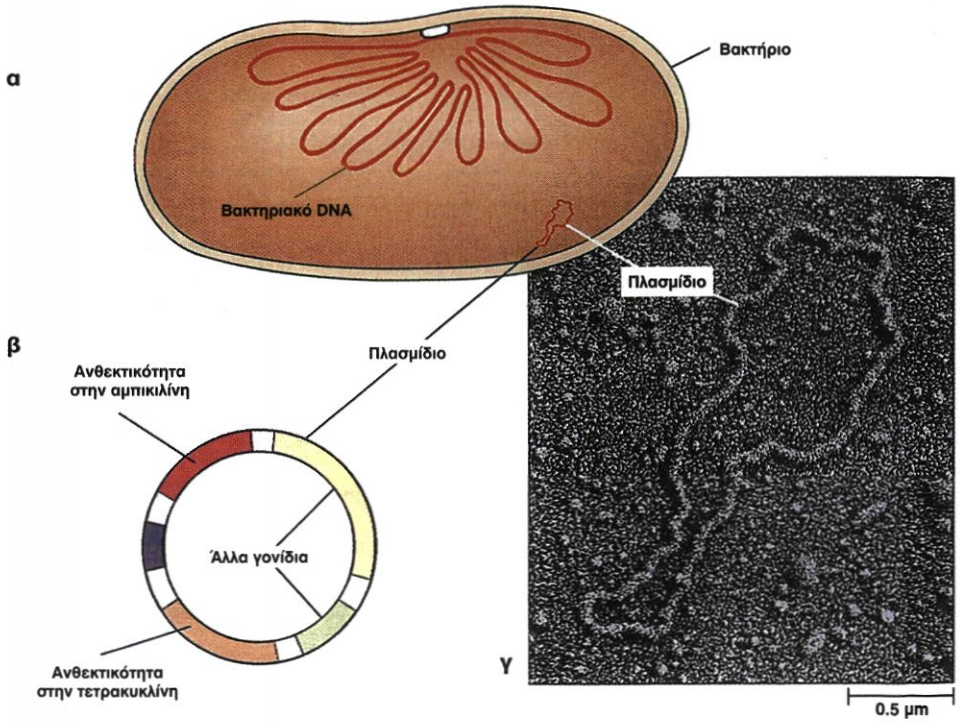
Το γενετικό υλικό ενός κυττάρου αποτελεί το **γονιδίωμά** του. Τα κύτταρα στα οποία το γονιδίωμα υπάρχει σε ένα μόνο αντίγραφο, όπως είναι τα προκαρυωτικά κύτταρα και οι γαμέτες των διπλοειδών οργανισμών, ονομάζονται **απλοειδή**. Τα κύτταρα στα οποία το γονιδίωμα υπάρχει σε δύο αντίγραφα, όπως είναι τα σωματικά κύτταρα των ανώτερων ευκαρυωτικών οργανισμών, ονομάζονται **διπλοειδή**. Στα ευκαρυωτικά κύτταρα το γενετικό υλικό κατανέμεται στον πυρήνα, στα μιτοχόνδρια και στους χλωροπλάστες. Συνήθως όμως ο όρος γονιδίωμα αναφέρεται στο γενετικό υλικό που βρίσκεται στον πυρήνα.

Για την περιγραφή του μήκους ή της άλληλουχίας ενός νουκλεϊκού οξέος χρησιμοποιείται ο όρος **αριθμός** ή **αλληλουχία βάσεων** αντίστοιχα. Στην πραγματικότητα εννοούμε τον αριθμό ή την ακολουθία των νουκλεοτιδίων του νουκλεϊκού οξέος. Η απλούστευση αυτή γίνεται γιατί το μόνο τμήμα του νουκλεοτιδίου που αλλάζει είναι η αζωτούχος βάση. Έτσι αναφέρεται ότι ένα μόριο DNA έχει μήκος 2.000 ζεύγη βάσεων, επειδή είναι δίκλωνο, ενώ ένα μόριο mRNA έχει μήκος 2.000 βάσεις επειδή είναι μονόκλωνο.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1.1: Μέγεθος γονιδιώματος διάφορων οργανισμών

Οργανισμός	Συνολικό DNA (σε ζεύγη βάσεων)	Αριθμός χρωμοσωμάτων (απλοειδές κύτταρο)
Zea mays (καλαμπόκι)	5×10^9	10
Homo sapiens	3×10^9	23
Drosophila melanogaster	1.6×10^8	4
Sacharomyces cerevisae	1.4×10^7	16
Escherichia coli	4×10^6	1

Εικόνα 1.6 α. Το βακτηριακό κύτταρο έχει ένα κυκλικό μόριο DNA το οποίο είναι συνδεδεμένο στο εσωτερικό τμήμα της κυτταρικής μεμβράνης. β. Έχει επίσης ένα μικρό κυκλικό μόριο DNA, το πλασμίδιο, το οποίο έχει γονίδια ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά. γ. Φωτογραφία του πλασμιδίου στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.



Το γενετικό υλικό των προκαρυωτικών κυττάρων είναι ένα κυκλικό μόριο DNA

Το γενετικό υλικό των προκαρυωτικών κυττάρων είναι ένα **δίκλωνο κυκλικό μόριο DNA** μήκους περίπου 1 mm. Το κυκλικό αυτό μόριο DNA αναδιπλώνεται και πακετάρεται με τη βοήθεια κυρίως πρωτεϊνών με αποτέλεσμα να έχει τελικό μήκος στο κύτταρο 1μm. Περιέχει ένα αντίγραφο του γονιδιώματος, άρα τα προκαρυωτικά κύτταρα είναι απλοειδή.

Σε πολλά βακτήρια, εκτός από το κύριο κυκλικό μόριο DNA, υπάρχουν και τα **πλασμίδια** (Εικόνα 1.6). Τα πλασμίδια είναι δίκλωνα, κυκλικά μόρια DNA με διάφορα μεγέθη. Περιέχουν μικρό ποσοστό της γενετικής πληροφορίας και αποτελούν το 1-2% του βακτηριακού DNA. Ένα βακτήριο μπορεί να περιέχει ένα ή περισσότερα πλασμίδια, τα οποία αντιγράφονται ανεξάρτητα από το κύριο μόριο DNA του βακτηρίου. Μεταξύ των γονιδίων που περιέχονται στα πλασμίδια υπάρχουν γονίδια ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά και γονίδια που σχετίζονται με τη μεταφορά γενετικού υλικού από ένα βακτήριο σε άλλο. Τα πλασμίδια έχουν τη δυνατότητα να ανταλλάσσουν γενετικό υλικό τόσο μεταξύ τους όσο και με το κύριο μόριο DNA του βακτηρίου, καθώς και να μεταφέρονται από ένα βακτήριο σε άλλο. Με τον τρόπο αυτό μετασχηματίζουν το βακτήριο στο οποίο εισέρχονται και του προσδίδουν καινούριες ιδιότητες. Τα πλασμίδια αποτελούν πολύτιμο εργαλείο των τεχνικών της Γενετικής Μηχανικής, όπως θα αναλυθεί στο κεφάλαιο του ανασυνδυασμένου DNA.

Το γενετικό υλικό των ευκαρυωτικών οργανισμών έχει πολύπλοκη οργάνωση

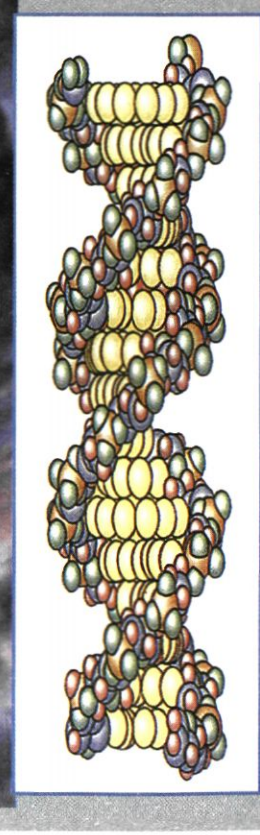
Το γενετικό υλικό των ευκαρυωτικών κυττάρων έχει μεγαλύτερο μήκος από αυτό των προκαρυωτικών. Το συνολικό DNA που υπάρχει σε κάθε ευκαρυωτικό κύτταρο δεν είναι ένα ενιαίο μόριο, αλλά αποτελείται από πολλά γραμμικά μόρια, ο αριθμός και το μήκος των οποίων είναι χαρακτηριστικά για τα διάφορα είδη των οργανισμών. Τα μόρια του DNA πακετάρονται με πρωτεΐνες και σχηματίζουν τα ινίδια χρωματίνης. Το συνολικό DNA σε κάθε διπλοειδές κύτταρο του ανθρώπου έχει μήκος περίπου 2 m και συσπειρώνεται σε τέτοιο βαθμό, ώστε να χωράει στον πυρήνα, που έχει διάμετρο δέκα εκατομμυριοστά του μέτρου!

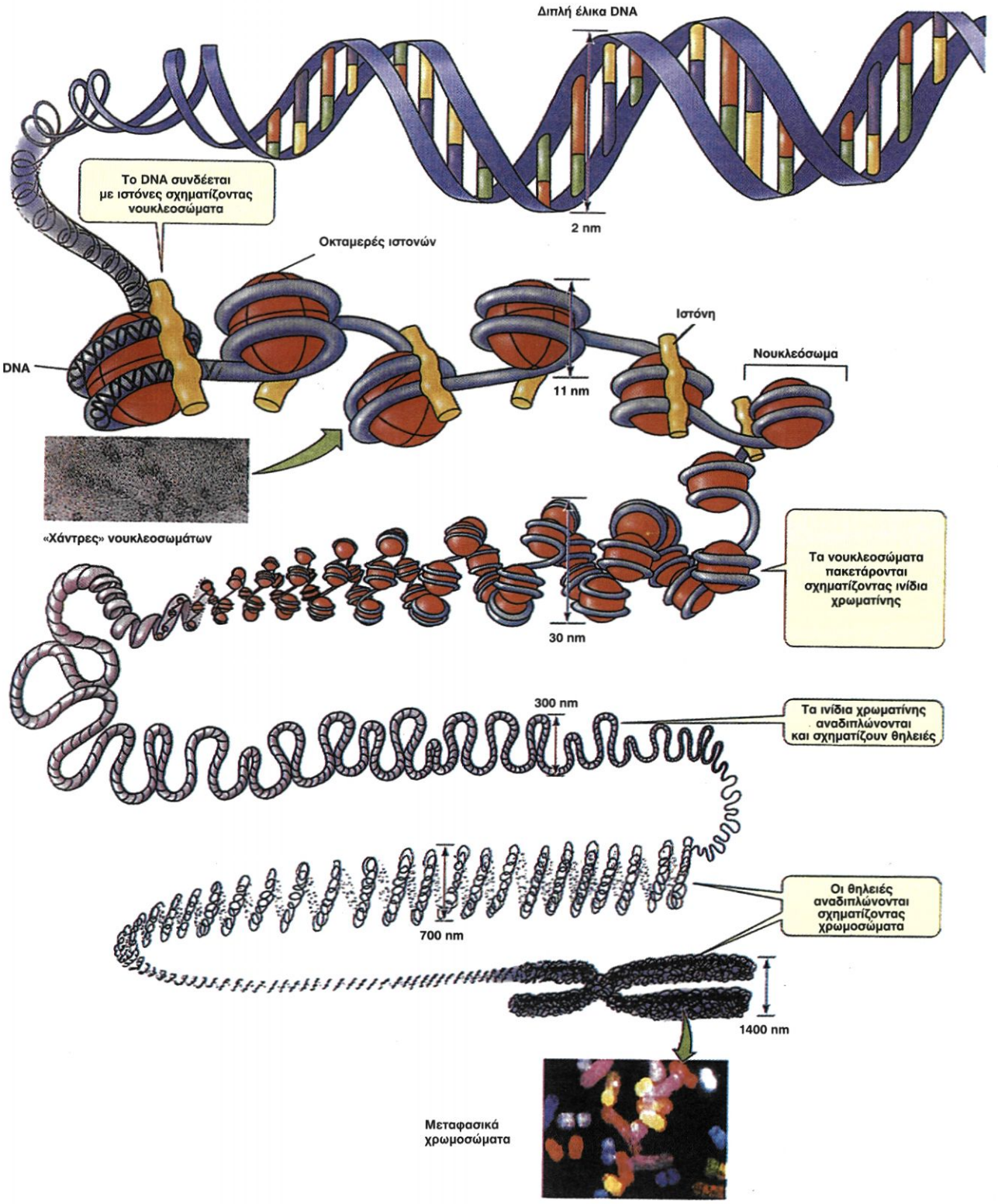
Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, ύστερα από ειδική επεξεργασία, τα ινίδια χρωματίνης μοιάζουν με κομπολόγια από χάντρες. Κάθε «χάντρα» ονομάζεται **νουκλεόσωμα** και αποτελεί τη βασική μονάδα οργάνωσης της χρωματίνης. Το νουκλεόσωμα αποτελείται από DNA μήκους 146 ζευγών βάσεων και από οκτώ μόρια πρωτεϊνών, που ονομάζονται **ιστόνες**. Το DNA είναι τυλιγμένο γύρω από το οκταμερές των ιστονών (Εικόνα 1.7). Τα νουκλεοσώματα αναδιπλώνονται με αποτέλεσμα το DNA να πακετάρεται σε μεγαλύτερο βαθμό, σχηματίζοντας τελικά τα ινίδια της χρωματίνης. Στην αναδίπλωση συμμετέχουν και άλλα είδη πρωτεϊνών.

Αν παρατηρήσουμε το γενετικό υλικό ενός ευκαρυωτικού κυττάρου, βλέπουμε ότι εμφανίζεται με διαφορετικές χαρακτηριστικές μορφές, ανάλογα με το στάδιο

Η Μοριακή Βιολογία με αριθμούς

Εάν ξεδιπλώναμε το DNA του πυρήνα ενός σωματικού κυττάρου του ανθρώπου, αυτό θα έφτανε συνολικά τα 2 m, όσο είναι δηλαδή το ύψος του διασημότερου καλαθοσφαιριστή που «πάτησε» στα γήπεδα του πλανήτη μας, του Air-Michael Jordan.





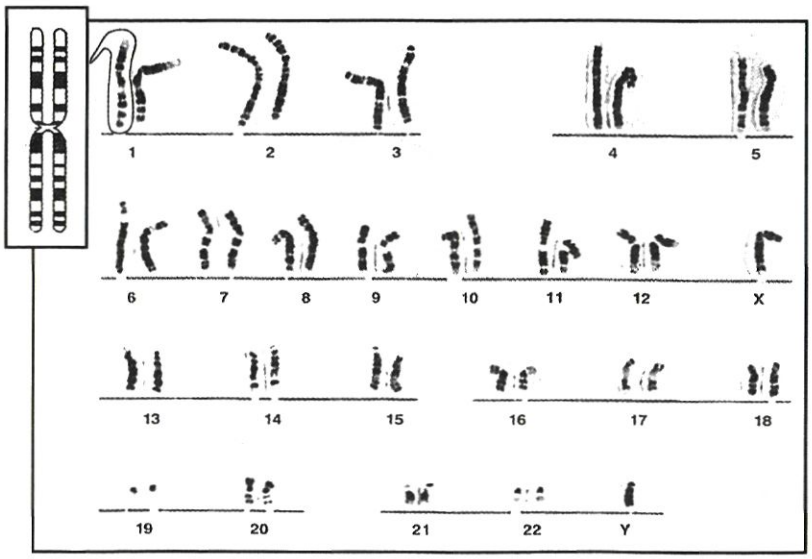
Εικόνα 1.7 Επίπεδα πακεταρίσματος του DNA στο μεταφασικό χρωμόσωμα. Στο κάτω μερος της εικόνας φαίνονται μεταφασικά χρωμοσώματα στο οπτικό μικροσκόπιο.

του **κυτταρικού κύκλου**. Κατά τη μεσόφαση το γενετικό υλικό έχει μικρό βαθμό συσπείρωσης και σχηματίζει δίκτυο ινιδίων χρωματίνης. Κατά συνέπεια τα ινίδια χρωματίνης δεν είναι ορατά ως μεμονωμένες δομές με το οπτικό μικροσκόπιο. Με το τέλος της αντιγραφής κάθε ινίδιο χρωματίνης έχει διπλασιαστεί. Τα δύο αντίγραφα κάθε ινιδίου συνδέονται μεταξύ τους με μία δομή που ονομάζεται **κεντρομερίδιο**.

Ο όρος **αδελφές χρωματίδες** χρησιμοποιείται για να περιγράψει τα διπλασιασμένα χρωμοσώματα κατά το χρονικό διάστημα που είναι συνδεδεμένα στο κεντρομερίδιο. Στην κυτταρική διαίρεση οι αδελφές χρωματίδες συσπειρώνονται και, κατά το στάδιο της μετάφασης, αποκτούν μέγιστο βαθμό συσπείρωσης. Στο στάδιο αυτό ο υψηλός βαθμός συσπείρωσης καθιστά τα μεταφασικά χρωμοσώματα ευδιάκριτα και έτσι είναι εύκολο να παρατηρηθούν με το οπτικό μικροσκόπιο (Εικόνα 1.7). Στο τέλος της κυτταρικής διαίρεσης προκύπτουν δύο νέα κύτταρα, γενετικά όμοια μεταξύ τους και με το αρχικό, αφού το καθένα περιέχει τη μία από τις δύο «πρώην» αδελφές χρωματίδες από κάθε χρωμόσωμα.

Θα μπορούσαμε να πούμε ότι τα ινίδια της χρωματίνης, τα χρωμοσώματα και οι χρωματίδες αποτελούν «διαφορετικές όψεις του ίδιου νομίσματος». Τα ινίδια της χρωματίνης διπλασιάζονται στη μεσόφαση και «μετατρέπονται» σε αδελφές χρωματίδες, οι οποίες γίνονται ευδιάκριτες στην κυτταρική διαίρεση. Κατά το τέλος της κυτταρικής διαίρεσης αποχωρίζονται πλήρως, αποσυσπειρώνονται σταδιακά και «μετατρέπονται» πάλι σε ινίδια χρωματίνης στο μεσοφασικό πυρήνα των νέων κυττάρων κ.ο.κ. Παρ' όλες όμως τις μορφολογικές αυτές μεταβολές η χημική σύσταση του γενετικού υλικού παραμένει αμετάβλητη.

Εικόνα 1.8 Καρυότυπος φυσιολογικού αρσενικού ατόμου, στον οποίο έχει προστεθεί απεικόνιση του 1ου χρωμοσώματος (χρώση Giemsa).



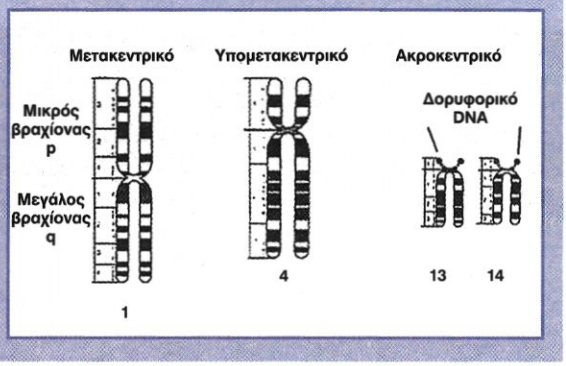
Παρατήρηση των χρωμοσωμάτων του ανθρώπου - Καρυότυπος

Το ανθρώπινο γονιδίωμα σε ένα απλοειδές κύτταρο (γαμέτη) αποτελείται από περίπου $3x10^9$ ζεύγη βάσεων DNA, που είναι οργανωμένα σε 23 χρωμοσώματα. Η μελέτη των χρωμοσωμάτων είναι δυνατή μόνο σε κύτταρα τα οποία διαιρούνται. Τα κύτταρα αυτά μπορεί να προέρχονται είτε από ιστούς που διαιρούνται φυσιολογικά είτε από κυτταροκαλλιέργειες, όπου γίνεται *in vitro* επαγωγή της διαίρεσης με ουσίες που έχουν μιτογόνο δράση. Τα χρωμοσώματα μελετώνται στο στάδιο της μετάφασης, όπου εμφανίζουν το μεγαλύτερο βαθμό συσπείρωσης και είναι ευδιάκριτα. Επειδή σε ένα πληθυσμό διαιρούμενων κυττάρων το ποσοστό αυτών που βρίσκονται στη μετάφαση είναι μικρό, χρησιμοποιούνται ουσίες οι οποίες σταματούν την κυτταρικη διαίρεση στη φάση αυτή. Στη συνέχεια τα κύτταρα επωάζονται σε υποτονικό διάλυμα, ώστε να σπάσει η κυτταρική τους μεμβράνη, και τα χρωμοσώματά τους απλώνονται σε αντικειμενοφόρο πλάκα. Τέλος, χρωματίζονται με ειδικές χρωστικές ουσίες και παρατηρούνται στο μικροσκόπιο.

Κάθε φυσιολογικό μεταφασικό χρωμόσωμα αποτελείται από δύο αδελφές χρωματίδες, οι οποίες συγκρατούνται στο κεντρομερίδιο. Το κεντρομερίδιο «διαιρεί» κάθε χρωματίδα σε δύο βραχίονες, ένα μεγάλο και ένα μικρό. Τα μεταφασικά χρωμοσώματα ενός κυττάρου διαφέρουν μεταξύ τους ως προς το μέγεθος και ως προς τη θέση του κεντρομεριδίου. Τα χρωμοσώματα ταξινομούνται σε ζεύγη κατά ελαττούμενο μέγεθος. Η απεικόνιση αυτή αποτελεί τον **καρυότυπο** (Εικόνα 1.8). Ο αριθμός και η μορφολογία των χρωμοσωμάτων είναι ιδιαίτερο χαρακτηριστικό κάθε είδους. Στον άνθρωπο τα φυσιολογικά αρσενικά και θηλυκά άτομα έχουν στον πυρήνα των σωματικών τους κυττάρων 23 **ζεύγη χρωμοσωμάτων**. Το ένα χρωμόσωμα καθε ζεύγους είναι πατρικής και το άλλο μητρικής προέλευσης και ελέγχουν τις ίδιες ιδιότητες. Από τα 23 ζεύγη τα 22 είναι μορφολογικά ίδια στα αρσενικά και στα θηλυκά άτομα και ονομάζονται **αυτοσωμικά χρωμοσώματα**. Το 23ο ζεύγος στα θηλυκά άτομα αποτελείται από δύο Χ χρωμοσώματα, ενώ στα αρσενικά από ένα Χ και ένα Υ χρωμόσωμα. Το Υ χρωμόσωμα είναι μικρότερο σε μέγεθος από το Χ. Τα χρωμοσώματα αυτά ονομάζονται **φυλετικά** και σε πολλούς οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου, καθορίζουν το φύλο. Στον άνθρωπο η παρουσία του Υ χρωμοσώματος καθορίζει το αρσενικό άτομο, ενώ η απουσία του το θηλυκό άτομο. Έτσι, ένα φυσιολογικό αρσενικό άτομο έχει 44 αυτοσωμικά χρωμο-

Η θέση του κεντρομεριδίου καθορίζει το σχήμα του χρωμοσώματος

Όταν το κεντρομερίδιο βρίσκεται περίπου στο μέσον του χρωμοσώματος, το χρωμόσωμα αυτό ονομάζεται **μετακεντρικό** (π.χ. στον άνθρωπο το χρωμόσωμα 1). Όταν το κεντρομερίδιο βρίσκεται κοντά στο άκρο, το χρωμόσωμα ονομάζεται **ακροκεντρικό** (π.χ. το χρωμόσωμα 13). Τέλος, όταν το κεντρομερίδιο βρίσκεται σε ενδιάμεση θέση, το χρωμόσωμα λέγεται **υπομετακεντρικό** (π.χ. το χρωμόσωμα 4).



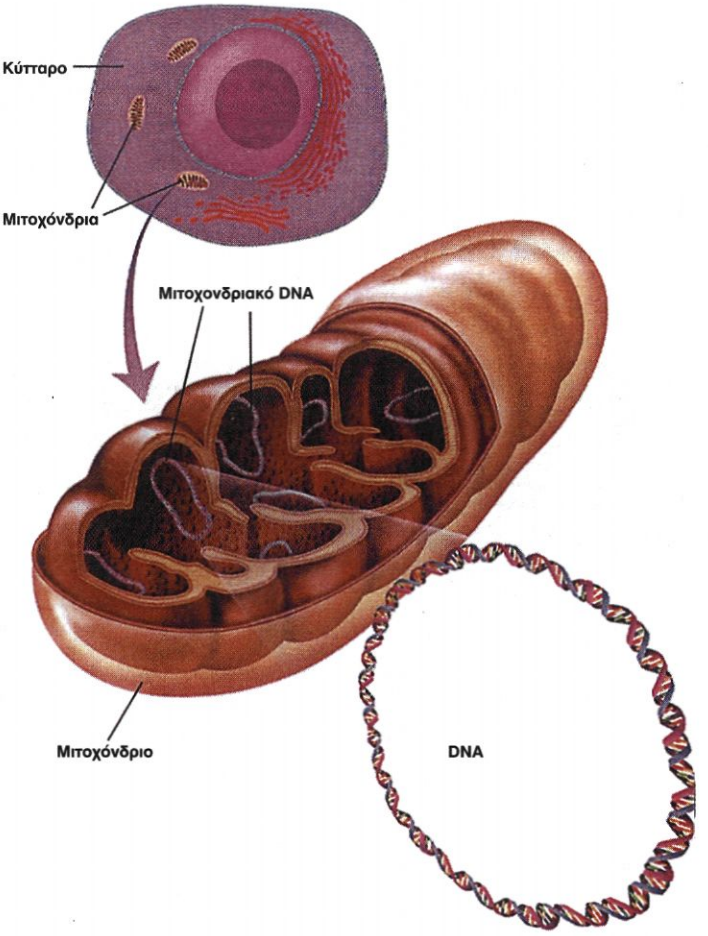
Ταξίδι στο χρόνο

Το **1952** οι Hsu και Pomerat χρησιμοποίησαν υποτονικό διάλυμα και το αλκαλοειδές κολχικίνη, που σταματά τη διαίρεση στη μετάφαση, για την ανάλυση των χρωμοσωμάτων.
Το **1960** οι Nowel, Moorehead και Hungerford επιτυγχάνουν να καλλιεργήσουν λεμφοκύτταρα με χρήση φυτοαιμαγλουτινίνης στο εργαστήριο.
Το **1960** πραγματοποιείται στο Denver διάσκεψη και καθορίζεται το σύστημα ονοματολογίας των ανθρώπινων μεταφασικών χρωμοσωμάτων.
Το **1970** ο Caspersson, χρησιμοποιώντας τη χρωστική κινακρίνη, επιτυγχάνει τη δημιουργία ζωνών στα χρωμοσώματα (ζώνες-Q).
Το **1971** στη διάσκεψη που πραγματοποιήθηκε στο Παρίσι καθορίζεται το πρότυπο των ζωνών των ανθρώπινων μεταφασικών χρωμοσωμάτων.

σώματα και ένα ζεύγος XY, ενώ ένα φυσιολογικό θηλυκό 44 αυτοσωμικά και ένα ζεύγος XX.

Τα μιτοχόνδρια και οι χλωροπλάστες έχουν το δικό τους γενετικό υλικό

Τα μιτοχόνδρια και οι χλωροπλάστες έχουν DNA. Το γενετικό υλικό των μιτοχονδρίων και των χλωροπλαστών περιέχει πληροφορίες σχετικές με τη λειτουργία τους,



Εικόνα 1.9 Ένα μιτοχόνδριο περιέχει πολλά μόρια κυκλικού DNA.

δηλαδή σχετικά με την οξειδωτική φωσφορυλίωση και τη φωτοσύνθεση αντίστοιχα, και κωδικοποιεί μικρό αριθμό πρωτεϊνών. Οι περισσότερες όμως πρωτεΐνες, που είναι απαραίτητες για τη λειτουργία των μιτοχονδρίων και των χλωροπλαστών, κωδικοποιούνται από γονίδια που βρίσκονται στο DNA του πυρήνα. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι τα οργανίδια αυτά δεν είναι ανεξάρτητα από τον πυρήνα του κυττάρου και για το λόγο αυτό χαρακτηρίζονται ως **ημιαυτόνομα**.

Το μιτοχονδριακό DNA στους περισσότερους οργανισμούς είναι κυκλικό μόριο. Κάθε μιτοχόνδριο περιέχει δύο έως δέκα αντίγραφα του κυκλικού μορίου DNA (Εικόνα 1.9). Σε ορισμένα όμως κατώτερα πρωτόζωα είναι γραμμικό. Το ζυγωτό των ανώτερων οργανισμών περιέχει μόνο τα μιτοχόνδρια που προέρχονται από το ωάριο. Επομένως, η προέλευση των μιτοχονδριακών γονιδίων είναι μητρική.

Μιτοχονδριακές ασθένειες και γήρανση

Κάθε κύτταρο περιέχει εκατοντάδες μιτοχόνδρια και κάθε μιτοχόνδριο έχει δύο έως δέκα αντίγραφα του κυκλικού μιτοχονδριακού DNA. Έτσι, συνολικά κάθε κύτταρο μπορεί να έχει μέχρι και 10.000 μόρια κυκλικού μιτοχονδριακού DNA. Οι μεταλλάξεις που συμβαίνουν σ' αυτό οδηγούν σε πολύ σοβαρές ασθένειες, που προκαλούν βλάβες στο κεντρικό νευρικό σύστημα, στην καρδιά και στο μυϊκό σύστημα. Ο τρόπος κληρονόμησής τους είναι ιδιαίτερα πολύπλοκος.

Στον ανθρώπινο οργανισμό, με την πάροδο του χρόνου συσσωρεύονται στο μιτοχονδριακό DNA πολλές μεταλλάξεις από τοξικές ουσίες και ιδιαίτερα από ελεύθερες ρίζες. Λόγω των μεταλλάξεων, τα ένζυμα που παράγονται από το μιτοχονδριακό DNA και συμμετέχουν στις αντιδράσεις της αναπνευστικής αλυσίδας, παύουν να λειτουργούν σωστά. Γι' αυτό με την ηλικία προκαλείται μυϊκή καχεξία, απώλεια της όρασης και της ακοής κ.ά. Πιστεύεται ότι η συμπλήρωση της διατροφής μας με αντιοξειδωτικούς παράγοντες όπως η βιταμίνη C μπορεί να καθυστερήσει τη διαδικασία της γήρανσης.

Το DNA των χλωροπλαστών είναι κυκλικό μόριο και έχει μεγαλύτερο μέγεθος από το μιτοχονδριακό DNA.

Οι ιοί έχουν γενετικό υλικό DNA ή RNA

Οι ιοί περιέχουν ένα μόνο είδος νουκλεϊκού οξέος, το οποίο μπορεί να είναι DNA ή RNA. Το DNA των ιών μπορεί να είναι μονόκλωνο ή δίκλωνο, γραμμικό ή κυκλικό. Οι RNA ιοί έχουν συνήθως γραμμικό RNA (σε σπάνιες περιπτώσεις είναι κυκλικό), το οποίο μπορεί να είναι μονόκλωνο ή δίκλωνο. Οι ιοί και ο κύκλος ζωής τους θα αναλυθούν στο αντίστοιχο κεφάλαιο.

Περίληψη

Το DNA, με εξαίρεση τους RNA ιούς, είναι το γενετικό υλικό σε όλους τους οργανισμούς. Σύμφωνα με το μοντέλο των Watson και Crick το DNA αποτελείται από δύο πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες, που σχηματίζουν διπλή έλικα. Οι δύο αλυσίδες του DNA είναι συμπληρωματικές μεταξύ τους, δηλαδή απέναντι από κάθε T βρίσκεται A και αντίστροφα, ενώ απέναντι από κάθε G βρίσκεται C και αντίστροφα. Η ποσότητα του DNA διαφέρει από οργανισμό σε οργανισμό.

Το DNA περιέχει όλες τις πληροφορίες που είναι απαραίτητες για τις λειτουργίες του οργανισμού, σε μονάδες πληροφορίας που ονομάζονται γονίδια.

Τα προκαρυωτικά κύτταρα έχουν ένα κύριο κυκλικό μόριο DNA και μερικές φορές έναν αριθμό μικρότερων κυκλικών μορίων, που ονομάζονται πλασμίδια. Στα ευκαρυωτικά κύτταρα το DNA κατανέμεται στον πυρήνα, στα μιτοχόνδρια και στους χλωροπλάστες (φυτικά κύτταρα). Το DNA του πυρήνα κατανέμεται στον άνθρωπο σε 23 ζεύγη χρωμοσωμάτων. Τα χρωμοσώματα εμφανίζουν διαφορετικό βαθμό συσπείρωσης, ανάλογα με το στάδιο του κυτταρικού κύκλου στο οποίο τα παρατηρούμε. Τα χρωμοσώματα είναι ορατά στο οπτικό μικροσκόπιο κατά τη μετάφαση, επειδή σε αυτό το στάδιο του κυτταρικού κύκλου εμφανίζουν τον υψηλότερο βαθμό συσπείρωσης. Στο στάδιο αυτό κάθε χρωμόσωμα αποτελείται από δύο αδελφές χρωματίδες, οι οποίες συγκρατούνται στο κεντρομερίδιο. Η απεικόνιση των χρωμοσωμάτων σε ζεύγη κατά ελαττούμενο μέγεθος ονομάζεται καρυότυπος. Τα μιτοχόνδρια (στους περισσότερους οργανισμούς) και οι χλωροπλάστες έχουν κυκλικά μόρια DNA, που περιέχουν πληροφορίες σχετικές με τη λειτουργία των οργανιδίων αυτών.

Ερωτήσεις

1. Το DNA σε δύο διαφορετικά κύτταρα ανθρώπου βρέθηκε ότι αποτελείται στο ένα από $3x10^9$ και στο άλλο από $6x10^9$ ζεύγη βάσεων. Πώς μπορεί να εξηγηθεί αυτό;

2. Με ποιον από τους τρόπους που αναφέρονται πιο κάτω συνδέεται κάθε νουκλεοτίδιο με το αμέσως επόμενό του στην πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα του DNA;
α. Η φωσφορική ομάδα του ενός με την αζωτούχο βάση του επόμενου.
β. Η φωσφορική ομάδα του ενός με τη δεοξυριβόζη του επομένου.
γ. Η αζωτούχος βάση του ενός με τη δεοξυριβόζη του επομένου.
δ. Οι αζωτούχες βάσεις δύο συνεχόμενων νουκλεοτιδίων με δεσμούς υδρογόνου.
ε. Η δεοξυριβόζη του ενός με τη φωσφορική ομάδα του επομένου.
στ. Οι φωσφορικές ομάδες δύο συνεχόμενων νουκλεοτιδίων μεταξύ τους.

3. Σε ένα μόριο DNA ευκαρυωτικού κυττάρου η αδενίνη αποτελεί το 20% των αζωτούχων βάσεών του. Σε ποιες αναλογίες (%) θα βρίσκεται η κάθε μία από τις υπόλοιπες αζωτούχες βάσεις του;

4. Να αναφέρετε, συνοπτικά, τις λειτουργίες του γενετικού υλικού.

5. Οι επιστήμονες μπορούν να κατασκευάσουν ένα σύνθετο ιό που προσβάλλει βακτήρια (βακτηριοφάγος ή φάγος) και που έχει το πρωτεϊνικό κάλυμμα του φάγου T_2 και το DNA του φάγου T_4. Όταν ο σύνθετος αυτός φάγος μολύνει ένα βακτήριο, οι απόγονοι φάγοι που θα παραχθούν θα έχουν:
α. τις πρωτεΐνες του φάγου T_2 και το DNA του φάγου T_4
β. τις πρωτεΐνες του φάγου T_4 και το DNA του φάγου T_2
γ. μείγμα του DNA και των πρωτεϊνών και των δύο φάγων
δ. τις πρωτεΐνες και το DNA του φάγου T_2
ε. τις πρωτεΐνες και το DNA του φάγου T_4.
Ποια από τις παραπάνω προτάσεις είναι σωστή;
Να τεκμηριώσετε την απάντησή σας.

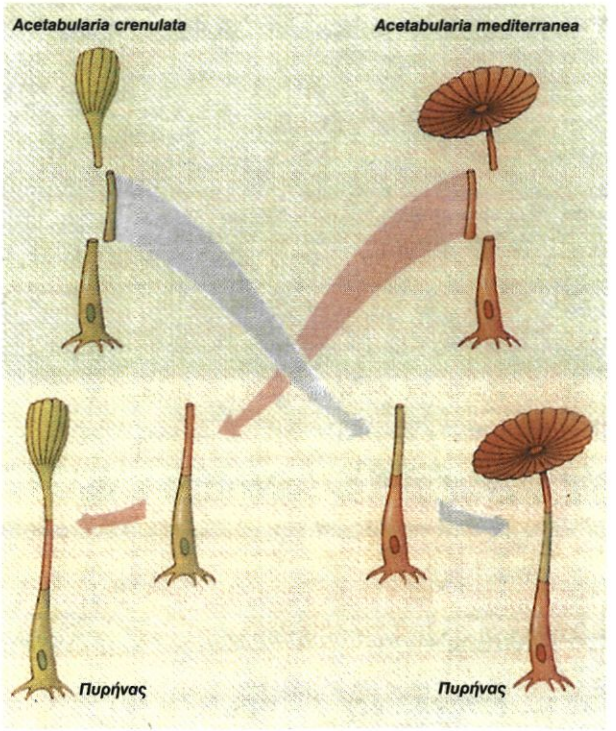
6. Τι είναι τα πλασμίδια; Να αναφέρετε δύο σημαντικά είδη γονιδίων που εντοπίζονται σε αυτά.

7. Ποια από τις παρακάτω προτάσεις που αφορά τα νουκλεοσώματα είναι σωστή;
α. Κατασκευάζονται από χρωμοσώματα
β. Αποτελούνται αποκλειστικά από DNA
γ. Αποτελούνται από DNA που τυλίγεται γύρω από πρωτεΐνες (ιστόνες)
δ. Δημιουργούνται μόνο κατά την κυτταρική διαίρεση
ε. Εμφανίζονται μόνο κατά τη μεσόφαση.

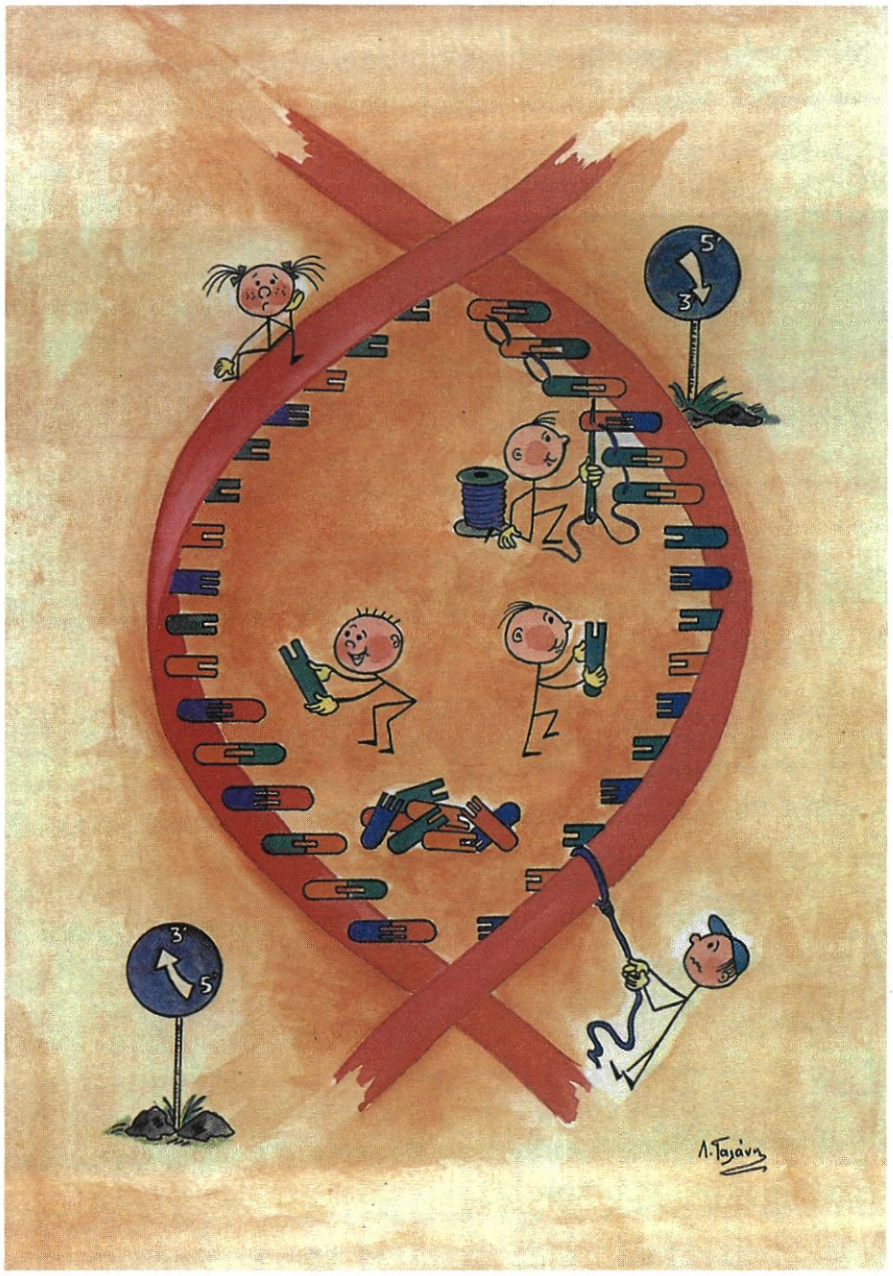
8. Να τοποθετήσετε κατά μέγεθος (ανάλογα με την ποσότητα του γενετικού υλικού) από το μικρότερο στο μεγαλύτερο τα:
Χρωμόσωμα, νουκλεοτίδιο, γονίδιο, νουκλεόσωμα.
(Ένα μέσο γονίδιο έχει μήκος 1.000 ζεύγη βάσεων)

9. Στο κείμενο που ακολουθεί διαγράψτε λέξεις ή φράσεις, ώστε η πρόταση που θα παραμείνει να είναι σωστή.
Το γενετικό υλικό των μιτοχονδρίων είναι [μονόκλωνο-δίκλωνο] μόριο [DNA-RNA] συνήθως [γραμμικό-κυκλικό] και περιέχει γενετικές πληροφορίες για [όλες-μερικές από] τις λειτουργίες του.

10. Η *Acetabularia* είναι ένας μονοκύτταρος οργανισμός με διαφοροποιημένα τμήματα: βάση, μίσχο και καπέλο. Σε ένα πείραμα ο J. Hummering «εμφύτευσε» στη βάση του είδους *Acetabularia crenulata* το μίσχο από το είδος *Acetabularia mediterranea* και αντίστροφα. Και στις δύο περιπτώσεις το καπέλο που σχηματίστηκε καθορίστηκε από τη βάση του οργανισμού και όχι από το μίσχο, που συνδέεται άμεσα με το καπέλο. Ποια συμπεράσματα βγαίνουν;



Αντιγραφή, έκφραση και ρύθμιση της γενετικής πληροφορίας



Για την αντιγραφή του DNA συνεργάζονται πολλά ένζυμα

κεφάλαιο

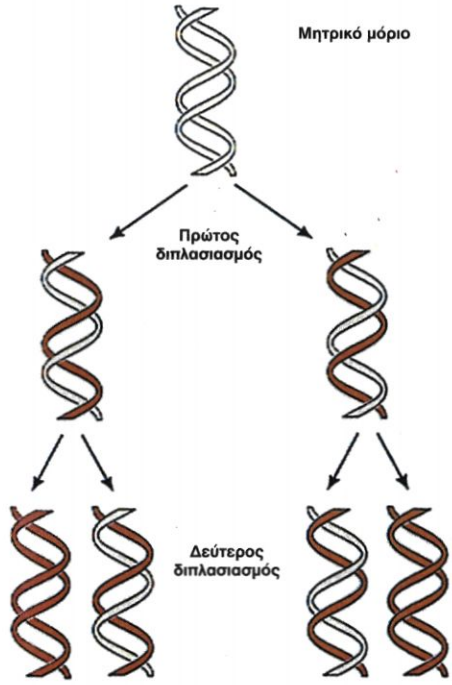
2

2. Αντιγραφή, έκφραση και ρύθμιση της γενετικής πληροφορίας

Αντιγραφή του DNA

Το DNA αυτοδιπλασιάζεται

Η συμπληρωματικότητα των βάσεων του DNA ώθησε τους Watson και Crick, όταν περιέγραφαν το μοντέλο τους για τη δομή του γενετικού υλικού το 1953, να γράψουν: «είναι φανερό ότι το ειδικό ζευγάρωμα που έχουμε υποθέσει ότι δημιουργείται μεταξύ των βάσεων του DNA προτείνει έναν απλό μηχανισμό αντιγραφής του γενετικού υλικού». Οι Watson και Crick φαντάστηκαν μια διπλή έλικα η οποία ξετυλίγεται και κάθε αλυσίδα λειτουργεί σαν καλούπι για τη σύνθεση μιας νέας συμπληρωματικής αλυσίδας. Έτσι τα δύο θυγατρικά μόρια που προκύπτουν είναι πανομοιότυπα με το μητρικό και καθένα αποτελείται από μία παλιά και μία καινούρια αλυσίδα. Ο μηχανισμός αυτός ονομάστηκε **ημισυντηρητικός** (Εικόνα 2.1).



Εικόνα 2.1 Ημισυντηρητικός διπλασιασμός DNA.

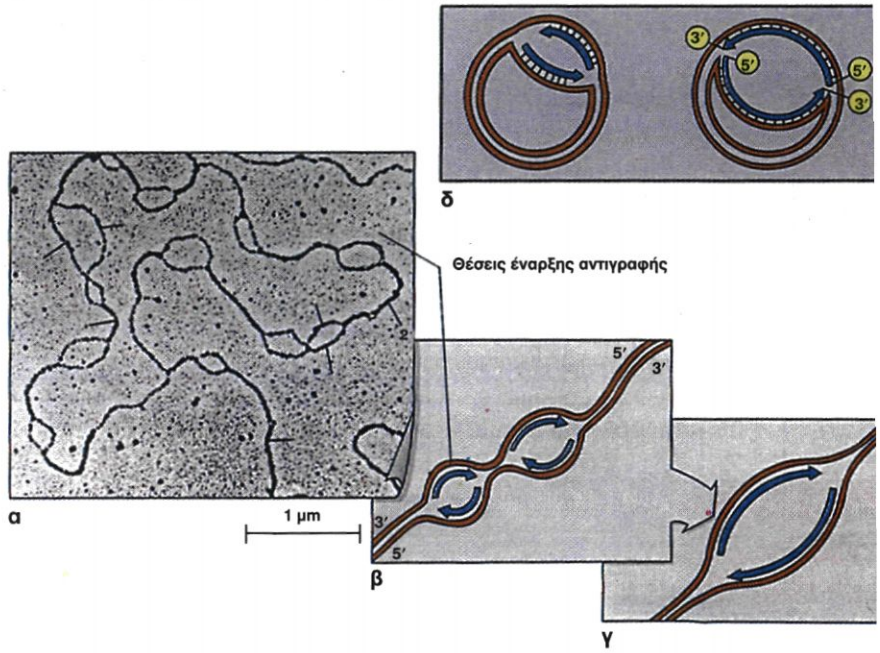
Στην αντιγραφή του DNA συνεργάζονται πολλά ένζυμα

Η διαδικασία της αντιγραφής, όπως υποδηλώνεται από τη δομή της διπλής έλικας και τον ημισυντηρητικό μηχανισμό, φαίνεται απλή. Όμως, ύστερα από πολύχρονη ερευνητική μελέτη, διαπιστώθηκε ότι η διαδικασία στην πραγματικότητα είναι ιδιαίτερα πολύπλοκη. Τα κύτταρα διαθέτουν ένα σημαντικό «οπλοστάσιο» εξειδικευμένων ενζύμων και άλλων πρωτεϊνών, που λειτουργούν ταυτόχρονα και καταλύουν τις χημικές αντιδράσεις της αντιγραφής με μεγάλη ταχύτητα και με εκπληκτική ακρίβεια.

Ο μηχανισμός της αντιγραφής έχει μελετηθεί πολύ περισσότερο στα προκαρυωτικά κύτταρα, και κυρίως στο βακτήριο *Escherichia coli*, γιατί το DNA τους είναι πολύ μικρότερο και απλούστερα οργανωμένο από το DNA των ευκαρυωτικών κυττάρων. Όμως τα βασικά στάδια του μηχανισμού της αντιγραφής παρουσιάζουν σημαντικές ομοιότητες και στα δύο είδη κυττάρων.

Η αντιγραφή του DNA αρχίζει από καθορισμένα σημεία, που ονομάζονται **θέσεις έναρξης της αντιγραφής** (Εικόνα 2.2). Το βακτηριακό DNA, που είναι κυκλικό, έχει μία μόνο θέση έναρξης της αντιγραφής και αντιγράφεται κάτω απο ευνοϊκές συνθήκες σε λιγότερο από 30 λεπτά. Στα ευκαρυωτικά κύτταρα, πριν

Εικόνα 2.2 Σημεία έναρξης αντιγραφής του DNA α. στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς (φωτογραφία ηλεκτρονικού μικροσκοπίου), β. και γ. στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς διαγραμματικά δ. στα βακτήρια διαγραμματικά.



την αντιγραφή, το DNA καθε χρωμοσώματος είναι ένα μακρύ γραμμικό μόριο, το οποίο έχει πολυάριθμες θέσεις έναρξης της αντιγραφής. Έτσι το DNA των ευκαρυωτικών κυττάρων αντιγράφεται ταυτόχρονα από εκατοντάδες σημεία σε όλο το μήκος του και στη συνέχεια τα τμήματα που δημιουργούνται ενώνονται μεταξύ τους. Με αυτό τον τρόπο το DNA των ανώτερων ευκαρυωτικών οργανισμών, παρ' ότι είναι περίπου 1.000 φορές μεγαλύτερο από των προκαρυωτικών, αντιγράφεται πολύ γρήγορα.

Για να αρχίσει η αντιγραφή του DNA, είναι απαραίτητο να ξετυλιχθούν στις θέσεις έναρξης της αντιγραφής οι δύο αλυσίδες. Αυτό επιτυγχάνεται με τη βοήθεια ειδικών ενζύμων, που σπάζουν τους δεσμούς υδρογόνου μεταξύ των δύο αλυσίδων. Τα ένζυμα αυτά ονομάζονται **DNA ελικάσες** (Εικόνα 2.3). Όταν ανοίξει η διπλή έλικα, δημιουργείται μια «θηλιά», η οποία αυξάνεται και προς τις δύο κατευθύνσεις (Εικόνα 2.3α). Οι θηλιές που δημιουργούνται κατά την έναρξη της αντιγραφής σε ένα μόριο DNA είναι ορατές με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (Εικόνα 2.2α).

Τα ένζυμα ξεμπερδεύουν το σχοινί!

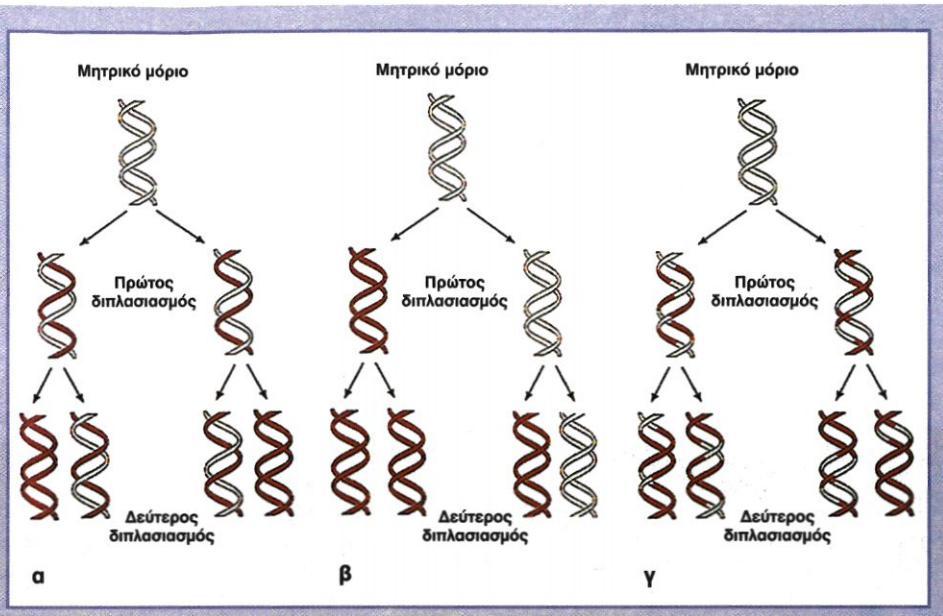
Όταν το DNA αρχίζει να ξετυλίγεται, δημιουργείται ένα πρόβλημα όμοιο με εκείνο το οποίο αντιμετωπίζουμε όταν προσπαθούμε να ξετυλίξουμε ένα δίκλωνο σχοινί. Το σχοινί, που είναι μια διπλή έλικα, περιστρέφεται γύρω από τον εαυτό του και δημιουργεί υπερέλικες. Το ίδιο συμβαίνει και με το DNA. Οι υπερέλικες εμποδίζουν το ξετύλιγμα του DNA, άρα και τη συνέχιση της αντιγραφής. Το κύτταρο λύνει το πρόβλημα αυτό με ειδικά ένζυμα, τα οποία καταστρέφουν τις υπερέλικες που δημιουργούνται κατά το ξετύλιγμα.

Τα κύρια ένζυμα που συμμετέχουν στην αντιγραφή του DNA ονομάζονται **DNA πολυμεράσες**. Επειδή τα ένζυμα αυτά δεν έχουν την ικανότητα να αρχίσουν την αντιγραφή, το κύτταρο έχει ένα ειδικό σύμπλοκο που αποτελείται από πολλά ένζυμα, το **πριμόσωμα**, το οποίο συνθέτει στις θέσεις έναρξης της αντιγραφής μικρά τμήματα RNA, συμπληρωματικά προς τις μητρικές αλυσίδες, τα οποία ονομάζονται **πρωταρχικά τμήματα**. DNA πολυμεράσες επιμηκύνουν τα πρωταρχικά τμήματα, τοποθετώντας συμπληρωματικά δεοξυριβονουκλεοτίδια απέναντι από τις μητρικές αλυσίδες του DNA. Τα νέα μόρια DNA αρχίζουν να σχηματίζονται, καθώς δημιουργούνται δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των συμπληρωματικών αζωτούχων βάσεων των δεοξυριβονουκλεοτιδίων. DNA πολυμεράσες επιδιορθώνουν επίσης λάθη που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια της αντιγραφής. Μπορούν, δηλαδή, να «βλέπουν» και να απομακρύνουν νουκλεοτίδια που οι ίδιες τοποθετούν, κατά παράβαση του κανόνα της συμπλη-

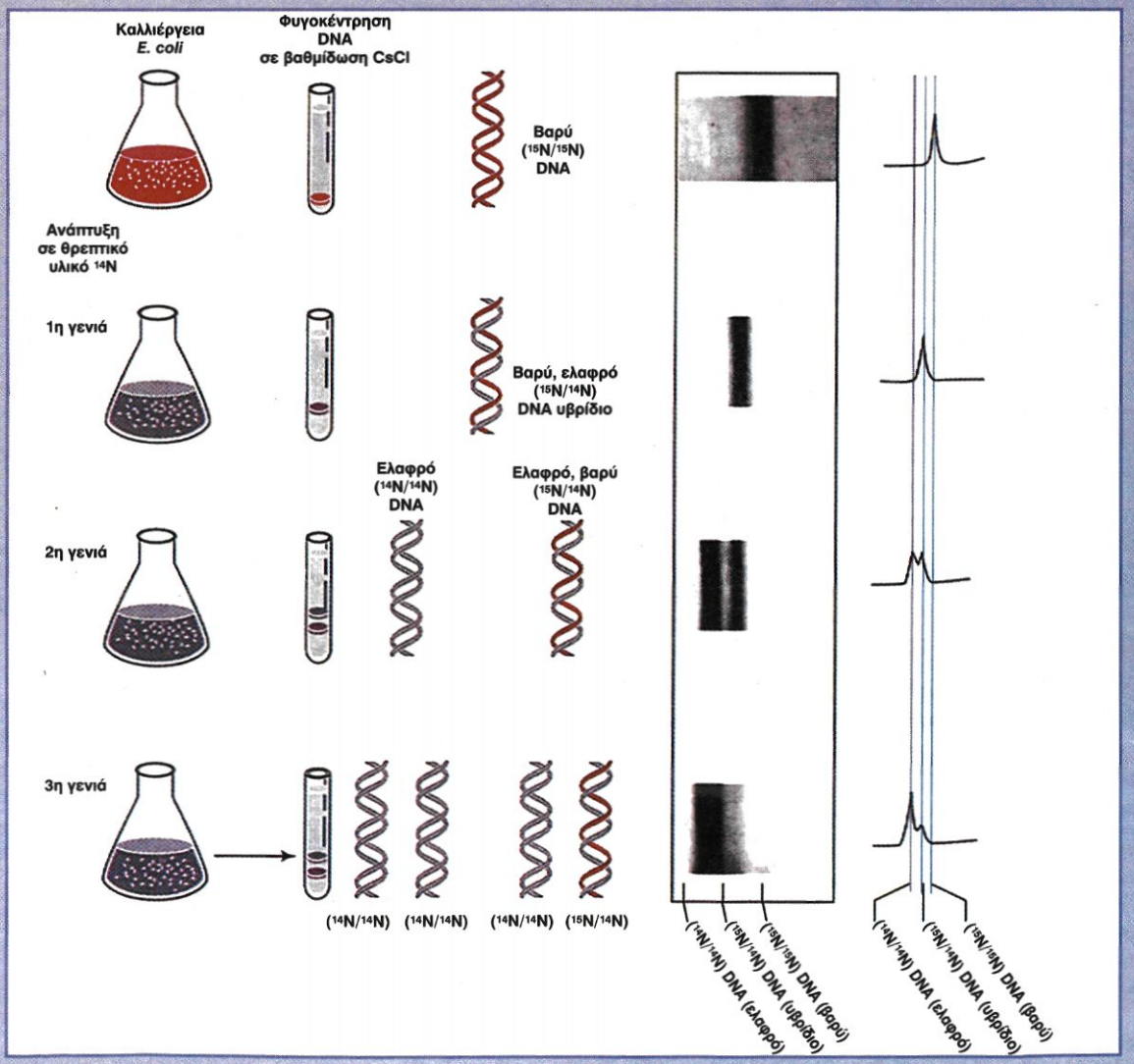
Η πειραματική απόδειξη του μηχανισμού αντιγραφής του DNA

Μολονότι ο ημισυντηρητικός μηχανισμός της αντιγραφής του DNA φαινόταν να είναι φυσική συνέπεια των ιδιοτήτων του, έπρεπε να αποδειχτεί και πειραματικά. Έπρεπε να αποκλειστεί η πιθανότητα να υπάρχει ένας άλλος μηχανισμός αντιγραφής όπως, π.χ. ο συντηρητικός ή ο διασπαρτικός. Αν ο μηχανισμός ήταν συντηρητικός, το μητρικό μόριο θα διατηρούσε την αρχική μορφή του και το θυγατρικό μόριο θα αποτελούνταν από τις δύο νέες αλυσίδες. Αν ήταν διασπαρτικός, τα δύο νέα μόρια DNA θα περιείχαν τυχαίες περιοχές και των μητρικών και των θυγατρικών μορίων.

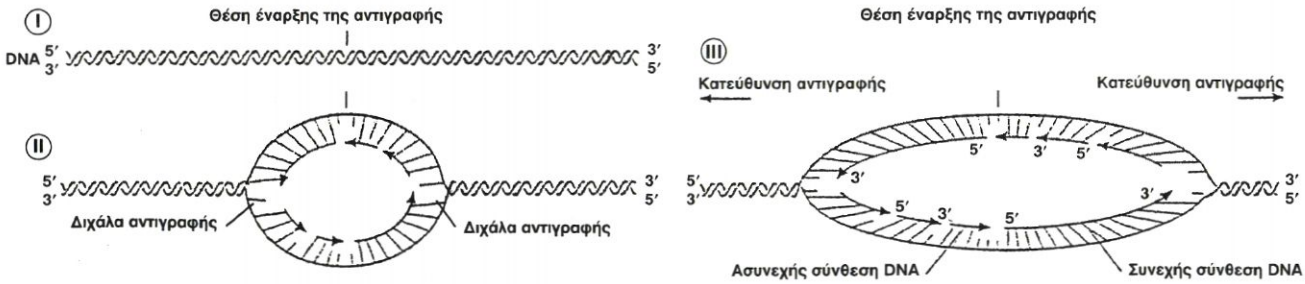
Οι Meselson και Stahl (1958) απέδειξαν ότι ο μηχανισμός της αντιγραφής του DNA είναι ημισυντηρητικός και απέκλεισαν το συντηρητικό και το διασπαρτικό τρόπο. Στο πείραμά τους βακτηρια *E. coli* αναπτύχθηκαν για πολλές γενιές σε θρεπτικό υλικό, που περιείχε ως μοναδική πηγή αζώτου $^{15}NH_4Cl$. Το αποτέλεσμα ήταν να δημιουργηθεί DNA που περιείχε «βαρύ» άζωτο ^{15}N αντί για «ελαφρό» ^{14}N. Τα κύτταρα αυτά μεταφέρθηκαν στη συνέχεια σε θρεπτικό υλικό με $^{14}NH_4Cl$ και αναπτύχθηκαν στο υλικό αυτό για πολλές γενιές. Οι ερευνητές πήραν δείγματα από την κυτταροκαλλιέργεια σε διάφορα χρονικά διαστήματα, απομόνωσαν το DNA και μέτρησαν την πυκνότητά του με μια τεχνική, που ονομάζεται υπερφυγοκέντρηση. Πριν από τη μεταφορά των κυττάρων στο $^{14}NH_4Cl$, όλα τα μόρια DNA έχουν μόνο βαρύ ^{15}N και εμφανίζονται σαν μια ζώνη με βαρύ DNA. Ύστερα από την πρώτη κυτταρική διαίρεση σε θρεπτικό υλικό με $^{14}NH_4Cl$, όλα τα μόρια DNA είναι υβριδικά ^{15}N-^{14}N και εμφανίζονται σε μία ζώνη ενδιάμεσης πυκνότητας. Μετά τη δεύτερη κυτταρική διαίρεση το DNA είναι μοιρασμένο εξίσου σε δύο ζώνες, μία ενδιάμεσης πυκνότητας (υβριδικά μόρια ^{15}N-^{14}N DNA) και μία με ελαφρό ^{14}N DNA. Τα αποτελέσματα αυτά υποστηρίζουν μόνο τον ημισυντηρητικό μηχανισμό. Αν ο μηχανισμός αντιγραφής ήταν συντηρητικός, τότε στην πρώτη γενιά το DNA θα εμφανιζόταν σε δύο ζώνες, μία με βαρύ ^{15}N DNA και μία με ελαφρό ^{14}N DNA. Αν ο μηχανισμός αντιγραφής ήταν διασπαρτικός, τότε στην πρώτη γενιά το αποτέλεσμα θα ήταν παρόμοιο με το αποτέλεσμα του ημισυντηρητικού, δηλαδή όλα τα μόρια DNA θα ήταν υβριδικά [τα δύο μόρια DNA θα παράγονταν από κομμάτια παλιού (^{15}N) και νέου (^{14}N) DNA]. Μετά τη δεύτερη όμως γενιά θα εμφανιζόταν πάλι μια ασαφής υβριδική ζώνη.



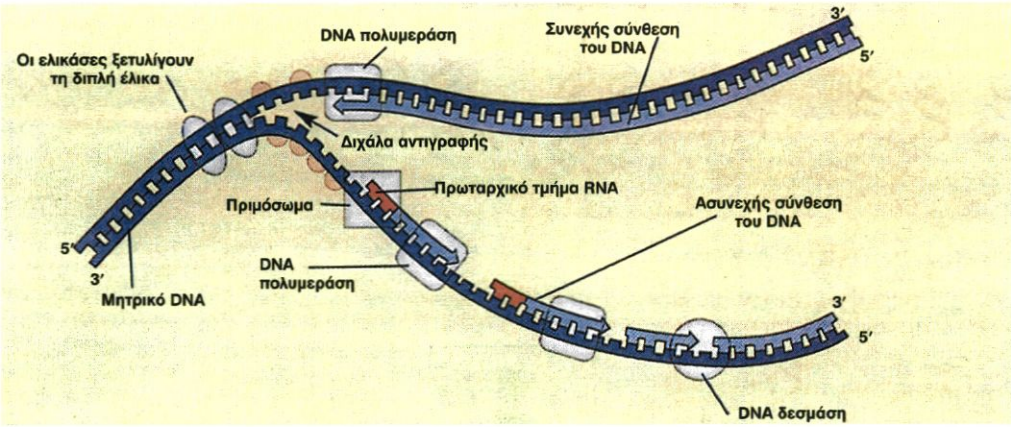
Υποθετικά μοντέλα διπλασιασμού του DNA: α) ημισυντηρητικός β) συντηρητικός γ) διασπαρτικός.



Ημισυντηρητικός διπλασιασμός του DNA. Ανάλυση των αποτελεσμάτων Meselson και Stahl.



Εικόνα 2.3α Θηλιά που δημιουργείται σε μια θέση έναρξης της αντιγραφής. Η αντιγραφή είναι αμφίδρομη με προσανατολισμό 5′→3′.



Εικόνα 2.3β Ένζυμα που συμμετέχουν στην αντιγραφή του DNA. Στο τμήμα DNA που παρουσιάζεται, η σύνθεση της μιας αλυσίδας είναι συνεχής ενώ της άλλης ασυνεχής.

ρωματικότητας, και να τοποθετούν τα σωστά. Ταυτόχρονα DNA πολυμεράσες απομακρύνουν τα πρωταρχικά τμήματα RNA και τα αντικαθιστούν με τμήματα DNA.

Οι DNA πολυμεράσες λειτουργούν μόνο προς καθορισμένη κατεύθυνση και τοποθετούν τα νουκλεοτίδια στο ελεύθερο 3′ άκρο της δεοξυριβόζης του τελευταίου νουκλεοτιδίου κάθε αναπτυσσόμενης αλυσίδας. Έτσι, λέμε ότι αντιγραφή γίνεται με προσανατολισμό 5′ προς 3′. Κάθε νεοσυντιθέμενη αλυσίδα θα έχει προσανατολισμό 5′→3′. Έτσι, σε κάθε διπλή έλικα που παράγεται οι δύο αλυσίδες θα είναι αντιπαράλληλες. Για να ακολουθηθεί αυτός ο κανόνας σε κάθε τμήμα DNA που γίνεται η αντιγραφή, η σύνθεση του DNA είναι **συνεχής** στη μια αλυσίδα και **ασυνεχής** στην άλλη. Τα κομμάτια της ασυνεχούς αλυσίδας συνδέονται μεταξύ τους με τη βοήθεια ενός ενζύμου, που ονομάζεται **DNA δεσμάση** (Εικόνα 2.3). Το ίδιο ένζυμο συνδέει και όλα τα κομμάτια που προκύπτουν από τις διάφορες θέσεις έναρξης αντιγραφής.

Όπως τα προϊόντα ενός εργοστασίου ελέγχονται με αρκετούς τρόπους, για να εξακριβωθεί αν έχουν κατασκευαστεί σωστά, έτσι και το κύτταρο ελέγχει αν η αλληλουχία βάσεων του DNA είναι σωστή. Η αντιγραφή του DNA είναι απίστευτα ακριβής, μόνο ένα νουκλεοτίδιο στα 100.000 μπορεί να ενσωματωθεί λάθος. Τα λάθη που δεν επιδιορθώνονται από τις DNA πολυμεράσες, επιδιορθώνονται σε μεγάλο ποσοστό από ειδικά **επιδιορθωτικά ένζυμα**. Έτσι ο αριθμός των λαθών περιορίζεται στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς στο ένα στα 10^{10}!

Σκεφθείτε

Αν κάνατε εργασία αντίστοιχη με αυτήν που πραγματοποιούν οι DNA πολυμεράσες και έπρεπε να τοποθετείτε κατά μήκος ενός τεράστιου καλουπιού τούβλα, που θα διαλέγατε από ένα σάκο, με κριτήριο μόνο το σχήμα τους, πόσα λάθη θα κάνατε;

Έκφραση της γενετικής πληροφορίας

Η ροή της γενετικής πληροφορίας

Το DNA ενός οργανισμού είναι ο μοριακός «σκληρός δίσκος» που περιέχει αποθηκευμένες ακριβείς οδηγίες, οι οποίες καθορίζουν τη δομή και τη λειτουργία του οργανισμού. Ταυτόχρονα περιέχει την πληροφορία για τον αυτοδιπλασιασμό του, εξασφαλίζοντας έτσι τη μεταβίβαση των γενετικών οδηγιών από ένα κύτταρο στα θυγατρικά του και από έναν οργανισμό στους απογόνους του.

Το πρώτο βήμα για την έκφραση της πληροφορίας που υπάρχει στο DNA είναι η μεταφορά της στο RNA με τη διαδικασία της **μεταγραφής**. Το RNA μεταφέρει με τη σειρά του, μέσω της διαδικασίας της **μετάφρασης**, την πληροφορία στις πρωτεΐνες που είναι υπεύθυνες για τη δομή και λειτουργία των κυττάρων και κατ' επέκταση και των οργανισμών.

Η σχέση αυτή συνοψίζεται στο ακόλουθο σχήμα, όπου τα βέλη δείχνουν την κατεύθυνση της μεταφοράς της γενετικής πληροφορίας:

DNA → RNA → πρωτεΐνες

Το σχήμα αυτό αποτελεί το **κεντρικό δόγμα** της Μοριακής Βιολογίας όπως ονομάστηκε από τον F. Crick (1958). Η γενετική πληροφορία είναι η καθορισμένη σειρά των βάσεων, όπως η πληροφορία μιας γραπτής φράσης είναι η σειρά των γραμμάτων που την αποτελούν. Η πληροφορία υπάρχει σε τμήματα του DNA με συγκεκριμένη ακολουθία, τα **γονίδια**. Αυτά, διά μέσου της μεταγραφής και της μετάφρασης, καθορίζουν τη σειρά των αμινοξέων στην πρωτεΐνη. Οι πορείες της μεταγραφής και της μετάφρασης των γονιδίων αποτελούν τη **γονιδιακή έκφραση**.

Για αρκετό καιρό οι ερευνητές πίστευαν ότι όλη η ροή της γενετικής πληροφορίας γινόταν προς τη μία μόνο κατεύθυνση, δηλαδή ότι το DNA μεταγραφόταν σε RNA. Σήμερα είναι γνωστό ότι μερικοί ιοί έχουν RNA ως γενετικό υλικό. Ένα ένζυμο που υπάρχει στους ίδιους τους ιούς, η **αντίστροφη μεταγραφάση**, χρησιμοποιεί ως καλούπι το RNA, για να συνθέσει DNA. Επιπλέον, σε ορισμένους ιούς το RNA έχει την ικανότητα να αυτοδιπλασιάζεται.

Έτσι σήμερα το κεντρικό δόγμα περιγράφεται ως εξής:

DNA ⇄ RNA → πρωτεΐνες ή

νουκλεϊκά οξέα → πρωτεΐνες

Συνοψίζοντας, λοιπόν, διαπιστώνουμε ότι η αντιγραφή του DNA διαιωνίζει τη γενετική πληροφορία, ενώ η μετάφραση χρησιμοποιεί αυτή την πληροφορία, για να κατασκευάσει ένα πολυπεπτίδιο. Η μεταγραφή καθορίζει ποια γονίδια θα εκφραστούν, σε ποιους ιστούς (στους πολυκύτταρους ευκαρυωτικούς οργανισμούς), και σε ποια στάδια της ανάπτυξης.

Όλα τα κύτταρα ενός πολυκύτταρου οργανισμού έχουν το ίδιο DNA. Σε κάθε ομάδα κυττάρων όμως εκφράζονται διαφορετικά γονίδια. Στα πρόδρομα ερυθροκύτταρα, για παράδειγμα, εκφράζονται κυρίως τα γονίδια των αιμοσφαιρινών, ενώ στα Β-λεμφοκύτταρα τα γονίδια των αντισωμάτων. Τα γονίδια διακρίνονται σε δύο κατηγορίες:

- Στα γονίδια που μεταγράφονται σε mRNA και μεταφράζονται στη συνέχεια σε πρωτεΐνες και
- Στα γονίδια που μεταγράφονται και παράγουν tRNA, rRNA, και snRNA.

Το απλοειδές ανθρώπινο γονιδίωμα έχει μήκος $3x10^9$ ζεύγη βάσεων. Από αυτό, μικρό ποσοστό μεταγράφεται σε RNA, δηλαδή αποτελεί τα γονίδια.

Υπάρχουν τέσσερα είδη μορίων RNA που παράγονται με τη μεταγραφή: το **αγγελιαφόρο RNA** (mRNA), το **μεταφορικό RNA** (tRNA), το **ριβοσωμικό RNA** (rRNA) και το **μικρό πυρηνικό RNA** (snRNA). Τα τρία πρώτα είδη υπάρχουν και στους προκαρυωτικούς και στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, αλλά το τέταρτο υπάρχει μόνο στους ευκαρυωτικούς.

1. Αγγελιαφόρο RNA (mRNA). Τα μόρια αυτά μεταφέρουν την πληροφορία του DNA για την παραγωγή μιας πολυπεπτιδικής αλυσίδας.
2. Ριβοσωμικό RNA (rRNA). Τα μόρια αυτά συνδέονται με πρωτεΐνες και σχηματίζουν το ριβόσωμα, ένα «σωματίδιο» απαραίτητο για την πραγματοποίηση της πρωτεϊνοσύνθεσης.
3. Μεταφορικό RNA (tRNA). Κάθε μεταφορικό RNA συνδέεται με ένα συγκεκριμένο αμινοξύ και το μεταφέρει στη θέση της πρωτεϊνοσύνθεσης.
4. Μικρό πυρηνικό RNA (snRNA). Είναι μικρά μόρια RNA, τα οποία συνδέονται με πρωτεΐνες και σχηματίζουν μικρά ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σωματίδια.Τα σωματίδια αυτά καταλύουν την «ωρίμανση» του mRNA, μια διαδικασία που, όπως θα αναφερθεί παρακάτω, γίνεται μόνο στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς.

Χρησιμοποιούνται και τα $3x10^9$ ζεύγη βάσεων του DNA για τη λειτουργία του οργανισμού μας;

Σύμφωνα με τελευταίες εκτιμήσεις το 25-30% του γονιδιώματος αποτελείται από γονίδια (από αυτό μόνο το 1,4% είναι εξώνια). Προκύπτει εύλογα το ερώτημα για το ποιος είναι ο ρόλος του υπόλοιπου 70-75% του DNA. Μερικοί ερευνητές το χαρακτηρίζουν ως «σαβούρα», που συσσωρεύτηκε κατά τη διάρκεια της εξέλιξης και είτε δεν έχει εμφανείς λειτουργίες είτε αυτές δεν είναι ακόμη γνωστές. Η γνώση ολόκληρης της αλληλουχίας των βάσεων του ανθρώπινου γονιδιώματος πιστεύεται ότι θα βοηθήσει στην κατανόηση των λειτουργιών του.

Η Μοριακή Βιολογία με αριθμούς

Αγγελιαφόρο RNA (mRNA). Αποτελεί λιγότερο από το 5% του ολικού RNA του κυττάρου. Τα περισσότερα mRNA έχουν μήκος 500-2.000 βάσεις.
Ριβοσωμικό RNA (rRNA). Είναι το πιο άφθονο από τα είδη RNA και αποτελεί το 80% περίπου του συνολικού RNA του κυττάρου. Έχει μέγεθος 100-3.000 βάσεις.
Μεταφορικό RNA (tRNA). Τα μόρια αυτά αποτελούν το 15% περίπου του συνολικού RNA στο κύτταρο. Αποτελείται από 70-85 βάσεις.

Ταξίδι στο χρόνο

1941 Διατυπώνεται από τους Beatle και Tatum η υπόθεση ότι ένα γονίδιο κωδικοποιεί την πληροφορία που απαιτείται για τη βιοσύνθεση ενός ενζύμου.

1958 Οι Meselson και Stahl αποδεικνύουν ότι το DNA αντιγράφεται με ημισυντηρητικό τρόπο.

1961 Οι Crick και Nirenberg ανακαλύπτουν τη «νουκλεοτιδική τριπλέτα» και αποκρυπτογραφούν εν μέρει το γενετικό κώδικα.

1962 Γίνεται γνωστή η ύπαρξη του mRNA. Οι Jacob και Monod προτείνουν το μοντέλο του οπερονίου για την ερμηνεία της γονιδιακής ρύθμισης.

1966 Ο Khorana αποκρυπτογραφεί το γενετικό κώδικα του DNA.

1970 Ανακαλύπτεται στους ρετροϊούς το ένζυμο αντίστροφη μεταγραφάση από τους Baltimore και Temin.

1977 Ανακαλύπτονται από τις ομάδες των Sharp και Roberts τα «διακεκομμένα» γονίδια και η διαδικασία «συρραφής» τους.

Η ανακάλυψη των εσωνίων έφερε στο φως μία μη αναμενόμενη λειτουργία του RNA

Η ύπαρξη των εσωνίων ανακαλύφθηκε το 1977 από δύο ξεχωριστές ερευνητικές ομάδες, την ομάδα του Sharp και την ομάδα του Roberts. Οι Sharp και Roberts τιμήθηκαν το 1993 με το βραβείο Νόμπελ για την εργασία τους. Όπως έχουμε αναφέρει, τα εσώνια είναι χαρακτηριστικό γνώρισμα των γονιδίων των ευκαρυωτικών οργανισμών. Μάλιστα, στους ανώτερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς υπάρχουν γονίδια που έχουν τεράστια εσώνια. Όσο προχωρούμε προς τους κατώτερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς τα εσώνια γίνονται λιγότερα και μικρότερα. Το 1982 βρέθηκε σε ένα πρωτόζωο, ένα RNA που περιείχε ένα εσώνιο, το οποίο μπορούσε να αυτοκαταλύεται (να κόβει τον εαυτό του χωρίς τη βοήθεια πρωτεϊνικών ενζύμων). Το RNA αυτό ονομάστηκε ριβόζυμο. Έτσι, για πρώτη φορά έγινε φανερό ότι το RNA μπορεί να λειτουργήσει και ως ένζυμο. Το γεγονός ότι οι πρωτεΐνες δεν είναι οι μόνοι καταλύτες της ζωής δείχνει για μια ακόμη φορά ότι μέσω της επιστημονικής μεθόδου οι νόμοι τροποποιούνται συνεχώς, καθώς συλλέγονται νέες πληροφορίες ύστερα από κατάλληλες πειραματικές προσεγγίσεις.

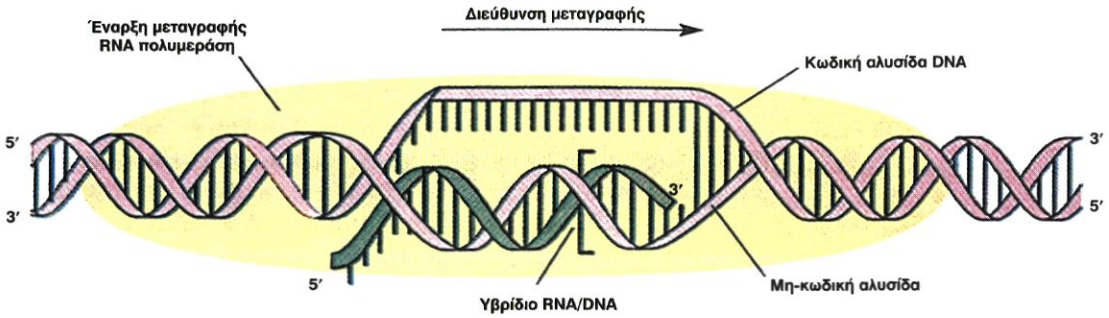
Μεταγραφή του DNA

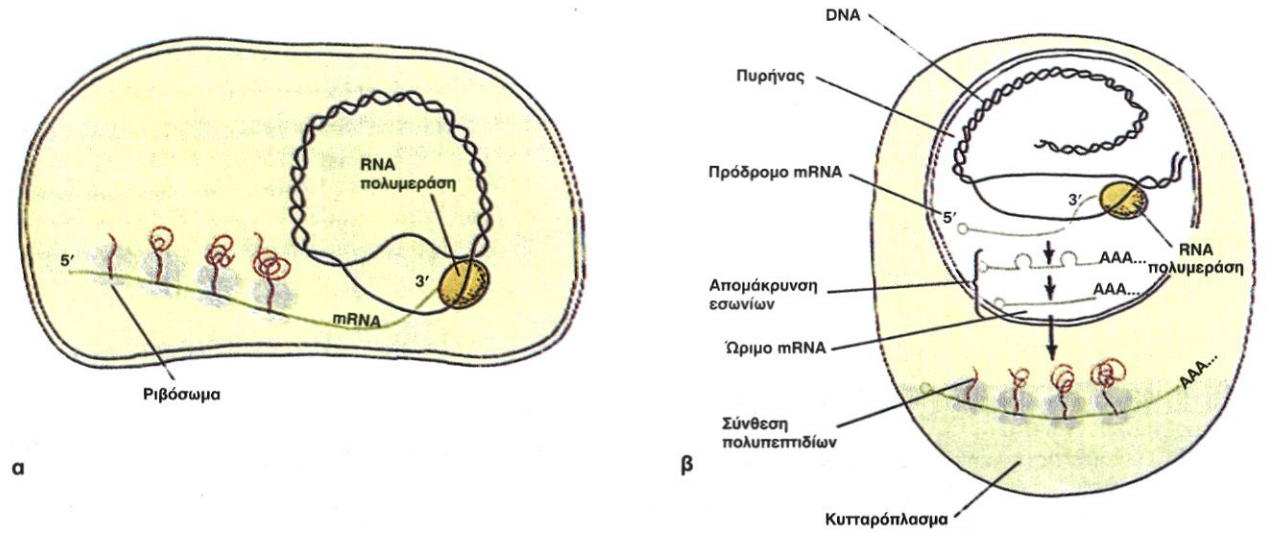
Ο μηχανισμός της μεταγραφής είναι ο ίδιος στους προκαρυωτικούς και ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Η μεταγραφή καταλύεται από ένα ένζυμο, την **RNA πολυμεράση** (στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς υπάρχουν τρία είδη RNA πολυμερασών).

Η RNA πολυμεράση προσδένεται σε ειδικές περιοχές του DNA, που ονομάζονται **υποκινητές**, με τη βοήθεια πρωτεϊνών που ονομάζονται **μεταγραφικοί παράγοντες**. Οι υποκινητές και οι μεταγραφικοί παράγοντες αποτελούν τα ρυθμιστικά στοιχεία της μεταγραφής του DNA και επιτρέπουν στην RNA πολυμεράση να αρχίσει σωστά τη μεταγραφή. Οι υποκινητές βρίσκονται πάντοτε πριν από την αρχή κάθε γονιδίου.

Κατά την έναρξη της μεταγραφής ενός γονιδίου η RNA πολυμεράση προσδένεται στον υποκινητή και προκαλεί τοπικό ξετύλιγμα της διπλής έλικας του DNA. Στη συνέχεια, τοποθετεί τα ριβονουκλεοτίδια απέναντι από τα δεοξυριβο-

Εικόνα 2.4 Γενικός μηχανισμός της μεταγραφής του RNA.





Εικόνα 2.5 α. Μεταγραφή - μετάφραση στους προκαρυωτικούς οργανισμούς. β. Μεταγραφή - μετάφραση στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς.

νουκλεοτίδια μίας αλυσίδας του DNA σύμφωνα με τον κανόνα της συμπληρωματικότητας των βάσεων, όπως και στην αντιγραφή, με τη διαφορά ότι εδώ απέναντι από την αδενίνη τοποθετείται το ριβονουκλεοτίδιο που περιέχει ουρακίλη. Η RNA πολυμεράση συνδέει τα ριβονουκλεοτίδια, που προστίθενται το ένα μετά το άλλο, με 3′-5′φωσφοδιεστερικό δεσμό. Η μεταγραφή έχει προσανατολισμό 5′ → 3′ όπως και η αντιγραφή (Εικόνα 2.4). Η σύνθεση του RNA σταματά στο τέλος του γονιδίου, όπου ειδικές αλληλουχίες οι οποίες ονομάζονται **αλληλουχίες λήξης της μεταγραφής**, επιτρέπουν την απελευθέρωσή του.

Το μόριο RNA που συντίθεται είναι συμπληρωματικό προς τη μία αλυσίδα της διπλής έλικας του DNA του γονιδίου. Η αλυσίδα αυτή είναι η μεταγραφόμενη και ονομάζεται **μη κωδική**. Η συμπληρωματική αλυσίδα του DNA του γονιδίου ονομάζεται **κωδική**. Το RNA είναι το κινητό αντίγραφο της πληροφορίας ενός γονιδίου.

Στους προκαρυωτικούς οργανισμούς το mRNA αρχίζει να μεταφράζεται σε πρωτεΐνη πριν ακόμη ολοκληρωθεί η μεταγραφή του. Αυτό είναι δυνατό, επειδή δεν υπάρχει πυρηνική μεμβράνη. (Εικόνα 2.5α).

Αντίθετα, στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς, το mRNA που παράγεται κατά τη μεταγραφή ενός γονιδίου συνήθως δεν είναι έτοιμο να μεταφραστεί, αλλά υφίσταται μια πολύπλοκη διαδικασία **ωρίμανσης** (Εικόνα 2.5β και 2.6). Η διαδικασία αυτή αποτελεί ένα από τα πιο ενδιαφέροντα ευρήματα της Μοριακής Βιολογίας, γιατί οδήγησε στο συμπέρασμα ότι τα περισσότερα γονίδια των ευκαρυωτικών οργανισμών (και των ιών που τους προσβάλλουν) είναι **ασυνεχή ή διακεκομμένα**. Δηλαδή, η αλληλουχία που μεταφράζεται σε αμινοξέα διακόπτεται από ενδιάμεσες αλληλουχίες οι οποίες δε μεταφράζονται σε αμινοξέα. Οι αλληλουχίες που μεταφράζονται σε αμινοξέα ονομάζονται **εξώνια** και οι ενδιάμεσες αλληλουχίες ονομάζονται **εσώνια**.

Όταν ένα γονίδιο που περιέχει εσώνια μεταγράφεται, δημιουργείται το **πρόδρομο mRNA** που περιέχει και εξώνια και εσώνια. Το πρόδρομο mRNA μετατρέπεται σε mRNA με τη διαδικασία της ωρίμανσης, κατά την οποία τα εσώνια κόβονται από μικρά ριβονουκλεοπρωτεϊνικά «σωματίδια» και απομακρύνονται. Τα ριβονουκλεοπρωτεϊνικά σωματίδια αποτελούνται από snRNA και από πρωτεΐνες και λειτουργούν ως ένζυμα: κόβουν τα εσώνια και συρράπτουν τα εξώνια μεταξύ τους. Έτσι σχηματίζεται το «**ώρι-**

Η Μοριακή Βιολογία με αριθμούς

Το μέσο μέγεθος των εξωνίων είναι 100-300 ζεύγη βάσεων, ενώ τα εσώνια ποικίλλουν σε μέγεθος από 65-100.000 ζεύγη βάσεων. Πολλά γονίδια έχουν μεγάλο αριθμό εσωνίων, π.χ. το γονίδιο του κολλαγόνου του ανθρώπου έχει 50 εσώνια. Ο αριθμός, το μέγεθος και η διευθέτηση των εσωνίων ποικίλλουν από γονίδιο σε γονίδιο. Τα εσώνια αποτελούν μεγάλο ποσοστό των γονιδιωμάτων των πολύπλοκων οργανισμών και έχουν συμβάλει σε μεγάλο βαθμό στην αύξηση του μεγέθους των γονιδιωμάτων τους.

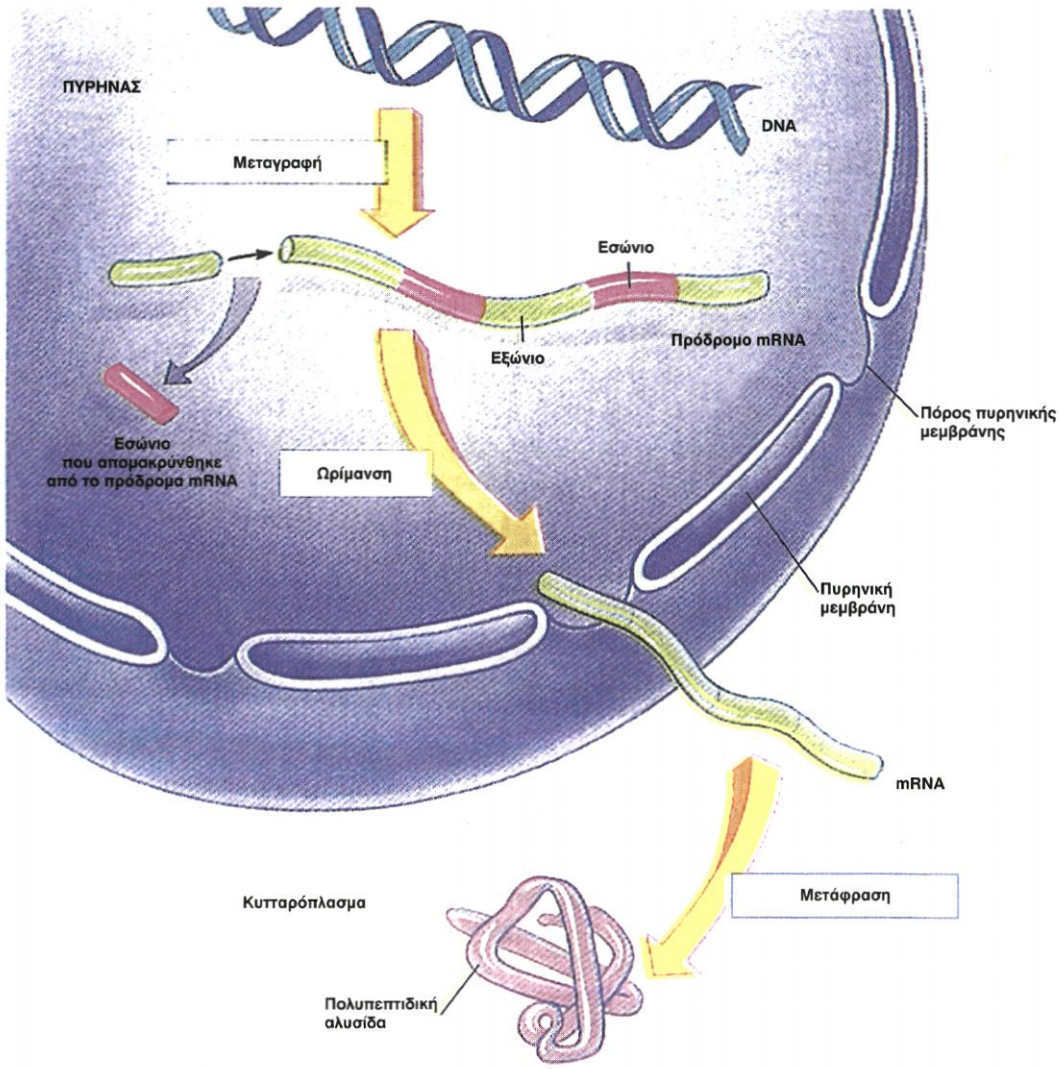
μο» mRNA. Αυτό, παρ' ότι αποτελείται αποκλειστικά από εξώνια, έχει δύο περιοχές που δε μεταφράζονται σε αμινοξέα. Η μία βρίσκεται στο 5′ άκρο και η άλλη στο 3′ άκρο. Οι αλληλουχίες αυτές ονομάζονται 5′ και 3′ αμετάφραστες περιοχές, αντίστοιχα. Το mRNA μεταφέρεται από τον πυρήνα στο κυτταρόπλασμα και ειδικότερα στα ριβοσώματα όπου είναι η θέση της πρωτεϊνοσύνθεσης (Εικόνα 2.5β).

Ο γενετικός κώδικας είναι η αντιστοίχιση τριπλετών βάσεων σε αμινοξέα

Με τη μεταγραφή, οι πληροφορίες που βρίσκονται στα γονίδια μεταφέρονται στο mRNA με βάση τη συμπληρωματικότητα των νουκλεοτιδικών βάσεων. Η αλληλουχία των βάσεων του mRNA καθορίζει την αλληλουχία των αμινοξέων στις πρωτεΐνες με βάση έναν κώδικα αντιστοίχισης νουκλεοτιδίων mRNA με αμινοξέα πρωτεϊνών, ο οποίος ονομάζεται **γενετικός κώδικας**. Γι' αυτό η πρωτεϊνοσύνθεση είναι πραγματικά μία διαδικασία «μετάφρασης» από τη γλώσσα των βάσεων στη γλώσσα των αμινοξέων.

Επειδή ο αριθμός των διαφορετικών αμινοξέων που συγκροτούν τις πρωτεΐνες είναι είκοσι και, αντίστοιχα, ο αριθμός των διαφορετικών νουκλεοτιδίων που συγκροτούν το RNA είναι τέσσερα, θεωρήθηκε πιθανό ότι τρία νουκλεοτίδια αντιστοιχούν σε ένα αμινοξύ και γι' αυτό ο γενετικός κώδικας ονομάστηκε κώδικας τριπλέτας. Ο κώδικας τριπλέτας είναι φυσική συνέπεια του γεγονότος ότι τέσσερα νουκλεοτίδια, αν συνδυαστούν ανά ένα ($4^1=4$) ή ανά δύο ($4^2 = 16$), δε δίνουν αρκετούς συνδυασμούς για να κωδικοποιηθούν τα είκοσι αμινοξέα. Αν όμως συνδυαστούν ανά τρία ($4^3=64$) οι συνδυασμοί είναι παραπάνω από αρκετοί (Πίνακας 2.1).

Εικόνα 2.6 Ωρίμανση του πρόδρομου μορίου του mRNA στον πυρήνα και μεταφορά του στο κυτταρόπλασμα, στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς.



ΠΙΝΑΚΑΣ 2.1: Γενετικός κώδικας

Πρώτο γράμμα	Δεύτερο γράμμα: U	Δεύτερο γράμμα: C	Δεύτερο γράμμα: A	Δεύτερο γράμμα: G	Τρίτο γράμμα
U	UUU, UUC: φαινυλαλανίνη (phe) UUA, UUG: λευκίνη (leu)	UCU, UCC, UCA, UCG: σερίνη (ser)	UAU, UAC: τυροσίνη (tyr) UAA: λήξη UAG: λήξη	UGU, UGC: κυστεΐνη (cys) UGA: λήξη UGG: τρυπτοφάνη (trp)	U C A G
C	CUU, CUC, CUA, CUG: λευκίνη (leu)	CCU, CCC, CCA, CCG: προλίνη (pro)	CAU, CAC: ιστιδίνη (his) CAA, CAG: γλουταμίνη (gln)	CGU, CGC, CGA, CGG: αργινίνη (arg)	U C A G
A	AUU, AUC, AUA: ισολευκίνη (ile) AUG: μεθειονίνη (met) έναρξη	ACU, ACC, ACA, ACG: θρεονίνη (thr)	AAU, AAC: ασπαραγίνη (asn) AAA, AAG: λυσίνη (lys)	AGU, AGC: σερίνη (ser) AGA, AGG: αργινίνη (arg)	U C A G
G	GUU, GUC, GUA, GUG: βαλίνη (val)	GCU, GCC, GCA, GCG: αλανίνη (ala)	GAU, GAC: ασπαρτικό οξύ (asp) GAA, GAG: γλουταμινικό οξύ (glu)	GGU, GGC, GGA, GGG: γλυκίνη (gly)	U C A G

Τα βασικά χαρακτηριστικά του γενετικού κώδικα είναι:

1. Ο γενετικός κώδικας είναι **κώδικας τριπλέτας**, δηλαδή μια τριάδα νουκλεοτιδίων, το **κωδικόνιο**, κωδικοποιεί ένα αμινοξύ.
2. Ο γενετικός κώδικας είναι **συνεχής**, δηλαδή το mRNA διαβάζεται συνεχώς ανά τρία νουκλεοτίδια χωρίς να παραλείπεται κάποιο νουκλεοτίδιο.
3. Ο γενετικός κώδικας είναι **μη επικαλυπτόμενος**, δηλαδή κάθε νουκλεοτίδιο ανήκει σε ένα μόνο κωδικόνιο.
4. Ο γενετικός κώδικας είναι **σχεδόν καθολικός**. Όλοι οι οργανισμοί έχουν τον ίδιο γενετικό κώδικα. Αυτό πρακτικά σημαίνει ότι το mRNA από οποιονδήποτε οργανισμό μπορεί να μεταφραστεί σε εκχυλίσματα φυτικών, ζωικών ή βακτηριακών κυττάρων *in vitro* και να παραγάγει την ίδια πρωτεΐνη.
5. Ο γενετικός κώδικας χαρακτηρίζεται ως **εκφυλισμένος**. Με εξαίρεση δύο αμινοξέα (μεθειονίνη και τρυπτοφάνη) τα υπόλοιπα 18 κωδικοποιούνται από δύο μέχρι και έξι διαφορετικά κωδικόνια. Τα κωδικόνια που κωδικοποιούν το ίδιο αμινοξύ ονομάζονται **συνώνυμα**.
6. Ο γενετικός κώδικας έχει **κωδικόνιο έναρξης** και **κωδικόνια λήξης**. Το κωδικόνιο έναρξης σε όλους τους οργανισμούς είναι το AUG και κωδικοποιεί το αμινοξύ μεθειονίνη. Υπάρχουν τρία κωδικόνια λήξης, τα UAG, UGA και UAA. Η παρουσία των κωδικονίων αυτών στο μόριο του mRNA οδηγεί στον τερματισμό της σύνθεσης της πολυπεπτιδικής αλυσίδας.

Ο όρος κωδικόνιο δεν αφορά μόνο το mRNA αλλά και το γονίδιο από το οποίο παράγεται. Έτσι, για παρά-

Μια ματιά 36 δις χρόνια πριν

Η ανακάλυψη των ριβοζύμων έφερε ξανά στην επικαιρότητα ένα ερώτημα που για δεκαετίες ταλανίζει τους επιστήμονες: ποιο πληροφοριακό μόριο εμφανίστηκε πρώτο κατά τα αρχικά στάδια της εξέλιξης, το DNA ή τα ένζυμα; Το ερώτημα αυτό δημιουργείται, επειδή δε φαίνεται να υπάρχει επικάλυψη στις λειτουργίες που επιτελούν και τα δύο αυτά μόρια, αφού το ένα αποθηκεύει τη γενετική πληροφορία ενώ το άλλο μπορεί να καταλύει αντιδράσεις. Πώς όμως έγινε σύνθεση του DNA χωρίς ένζυμα, ή πώς έγινε η σύνθεση των ενζύμων χωρίς το DNA; Μια απάντηση θα μπορούσε να είναι ότι το RNA κάνει και τις δύο λειτουργίες: μπορεί να είναι και γενετικό υλικό και να καταλύει αντιδράσεις, άρα μπορεί να είναι αυτό το πληροφοριακό μακρομόριο που πρωτοεμφανίστηκε. Μόνο αργότερα, όταν αυτές οι ενεργότητες «μοιράστηκαν» στο DNA και στις πρωτεΐνες, απέμεινε στο RNA η λειτουργία του συνδέσμου μεταξύ των δύο μορίων κατά τη ροή της γενετικής πληροφορίας.
Η ανακάλυψη της ενζυμικής δράσης ορισμένων μορίων RNA μπορεί να έχει και πρακτικές εφαρμογές. Οι ερευνητές ελπίζουν ότι θα μπορέσουν να συνθέσουν ριβόζυμα, τα οποία θα αναγνωρίζουν και θα καταστρέφουν ορισμένα RNA, όπως αυτά που συνθέτονται από τον ιό του AIDS, αφήνοντας ανεπηρέαστο το RNA του κυττάρου. Το πρώτο ριβόζυμο που υπόκειται σε κλινικές δοκιμές θα δοκιμαστεί εναντίον του ιού του έρπητα.

Αποκρυπτογραφώντας το γενετικό κώδικα

Η ακριβής αντιστοίχιση κωδικονίων με αμινοξέα έγινε κυρίως με τη μέθοδο των συνθετικών πολυνουκλεοτιδίων. Η μέθοδος αυτή εφαρμόστηκε αρχικά από τον Nirenberg, ο οποίος χρησιμοποίησε πολυουριδίνη (polyU) ως mRNA σε κυτταρικό εκχύλισμα του βακτηρίου *E. coli*, που έχει τα απαραίτητα συστατικά για τη μετάφραση του συνθετικού πολυνουκλεοτιδίου. Το πολυπεπτίδιο που παράχθηκε ήταν πολυφαινυλαλανίνη. Έτσι αποδείχτηκε ότι το κωδικόνιο UUU κωδικοποιεί το αμινοξύ φαινυλαλανίνη. Μετά την επιτυχία της μεθόδου χρησιμοποιήθηκαν και άλλα συνθετικά πολυνουκλεοτίδια από τον Khorana (γνωστά ως mRNA του Khorana) και έτσι ανακαλύφθηκαν τα περισσότερα κωδικόνια.
Με τα πειράματα αυτά και αρκετά άλλα διαπιστώθηκε ότι 61 από τα 64 κωδικόνια κωδικοποιούν αμινοξέα, ενώ τα τρία που απομένουν, UAA, UGA και UAG, δεν κωδικοποιούν αμινοξέα και είναι κωδικόνια λήξης της μετάφρασης.

δείγμα, το κωδικόνιο έναρξης AUG αντιστοιχεί στο κωδικόνιο έναρξης της κωδικής αλυσίδας του γονιδίου ATG κ.ο.κ.

Το τμήμα ενός γονιδίου, και του mRNA του που κωδικοποιεί μια πολυπεπτιδική αλυσίδα, αρχίζει με το κωδικόνιο έναρξης και τελειώνει με το κωδικόνιο λήξης.

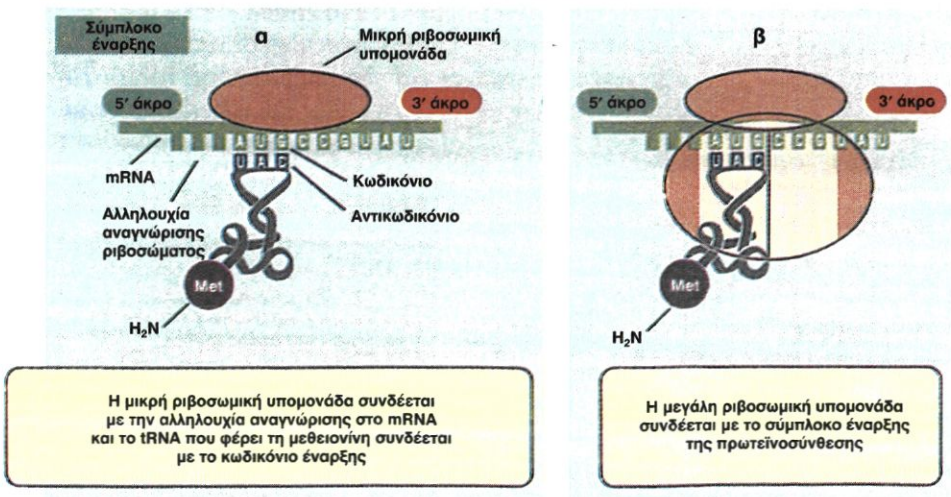
Μετάφραση

Η μετάφραση του mRNA, δηλαδή η αντιστοίχιση των κωδικονίων σε αμινοξέα και η διαδοχική σύνδεση των αμινοξέων σε πολυπεπτιδική αλυσίδα, πραγματοποιείται στα ριβοσώματα με τη βοήθεια των tRNA και τη συμμετοχή αρκετών πρωτεϊνών και ενέργειας. Τα ριβοσώματα μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως θέση μετάφρασης για οποιοδήποτε mRNA. Αυτό εξηγεί γιατί τα βακτήρια μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν «εργοστάσια παραγωγής ανθρώπινων πρωτεϊνών».

Κάθε ριβόσωμα αποτελείται από δύο υπομονάδες, μια μικρή και μια μεγάλη, και έχει μία θέση πρόσδεσης του mRNA στη μικρή υπομονάδα και δύο θέσεις εισδοχής των tRNA στη μεγάλη υπομονάδα. Κάθε μόριο tRNA έχει μια ειδική τριπλέτα νουκλεοτιδίων, το **αντικωδικόνιο**, με την οποία προσδένεται, λόγω συμπληρωματικότητας, με το αντίστοιχο κωδικόνιο του mRNA. Επιπλέον, κάθε μόριο tRNA διαθέτει μια ειδική θέση σύνδεσης με ένα συγκεκριμένο αμινοξύ.

Η πρωτεϊνοσύνθεση διακρίνεται σε τρία στάδια: την έναρξη, την επιμήκυνση και τη λήξη.

Έναρξη: Κατά την έναρξη της μετάφρασης το mRNA προσδένεται, μέσω μιας αλληλουχίας που υπάρχει στην 5′ αμετάφραση περιοχή του, με το ριβοσωμικό RNA της μικρής υπομονάδας του ριβοσώματος, σύμφωνα με τους κανόνες της συμπληρωματικότητας των βάσεων. Το πρώτο κωδικόνιο του mRNA είναι πάντοτε AUG και σ' αυτό προσδένεται το tRNA που φέρει το αμινοξύ μεθειονίνη. Όμως δεν έχουν όλες οι πρωτεΐνες του οργανισμού ως πρώτο αμινοξύ μεθειονίνη. Αυτό συμβαίνει γιατί, σε πολλές πρωτεΐνες, μετά τη σύνθεσή τους απομακρύνονται ορισμένα αμινοξέα από το αρχικό αμινικό άκρο τους. Το σύμπλοκο που δημιουργείται μετά την πρόσδεση του mRNA στη μικρή υπομονάδα του ριβοσώματος και του



Εικόνα 2.9 Η πρωτεϊνοσύνθεση αρχίζει με το σχηματισμό ενός συμπλόκου έναρξης.

tRNA που μεταφέρει τη μεθειονίνη ονομάζεται **σύμπλοκο έναρξης** της πρωτεϊνοσύνθεσης (Εικόνα 2.9α). Στη συνέχεια η μεγάλη υπομονάδα του ριβοσώματος συνδέεται με τη μικρή (Εικόνα 2.9β.).

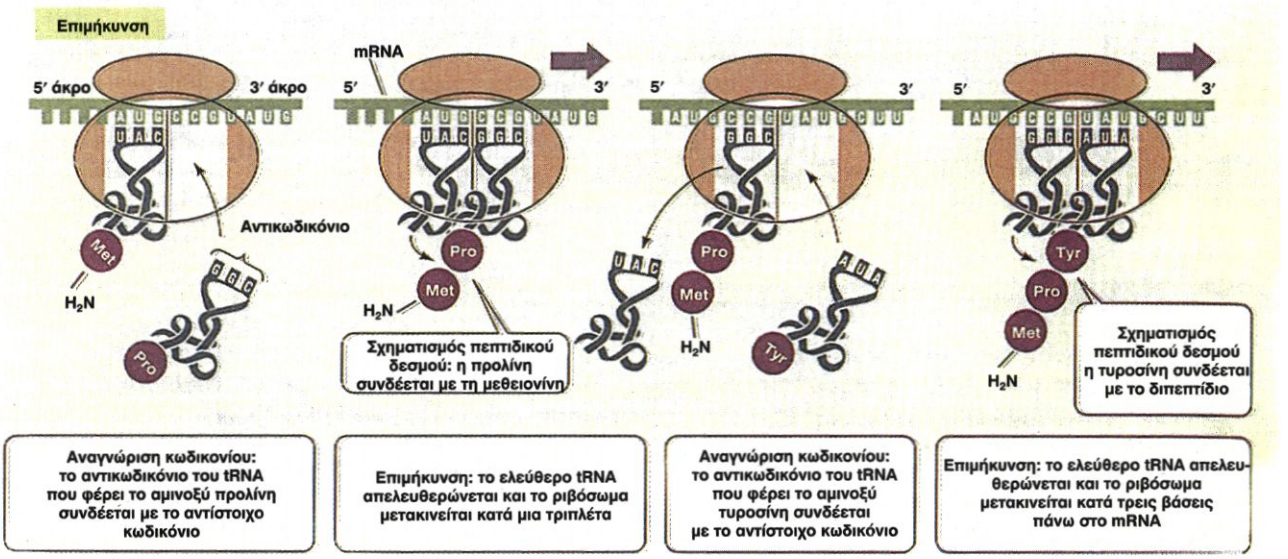
Επιμήκυνση: Κατά την επιμήκυνση ένα δεύτερο μόριο tRNA με αντικωδικόνιο συμπληρωματικό του δεύτερου κωδικονίου του mRNA τοποθετείται στην κατάλληλη εισδοχή του ριβοσώματος, μεταφέροντας το δεύτερο αμινοξύ. Μεταξύ της μεθειονίνης και του δεύτερου αμινοξέος σχηματίζεται πεπτιδικός δεσμός και αμέσως μετά, το πρώτο tRNA αποσυνδέεται από το ριβόσωμα και απελευθερώνεται στο κυτταρόπλασμα όπου συνδέεται πάλι με μεθειονίνη, έτοιμο για επόμενη χρήση. Το ριβόσωμα και το mRNA έχουν τώρα ένα tRNA, πάνω στο οποίο είναι προσδεμένα δύο αμινοξέα. Έτσι άρχίζει η επιμήκυνση της πολυπεπτιδικής αλυσίδας.

Στη συνέχεια το ριβόσωμα κινείται κατά μήκος του mRNA κατά ένα κωδικόνιο. Ένα τρίτο tRNA έρχεται να προσδεθεί μεταφέροντας το αμινοξύ του. Ανάμεσα στο δεύτερο και στο τρίτο αμινοξύ σχηματίζεται πεπτιδικός δεσμός. Η πολυπεπτιδική αλυσίδα συνεχίζει να αναπτύσσεται καθώς νέα tRNA μεταφέρουν αμινοξέα τα οποία συνδέονται μεταξύ τους (Εικόνα 2.10).

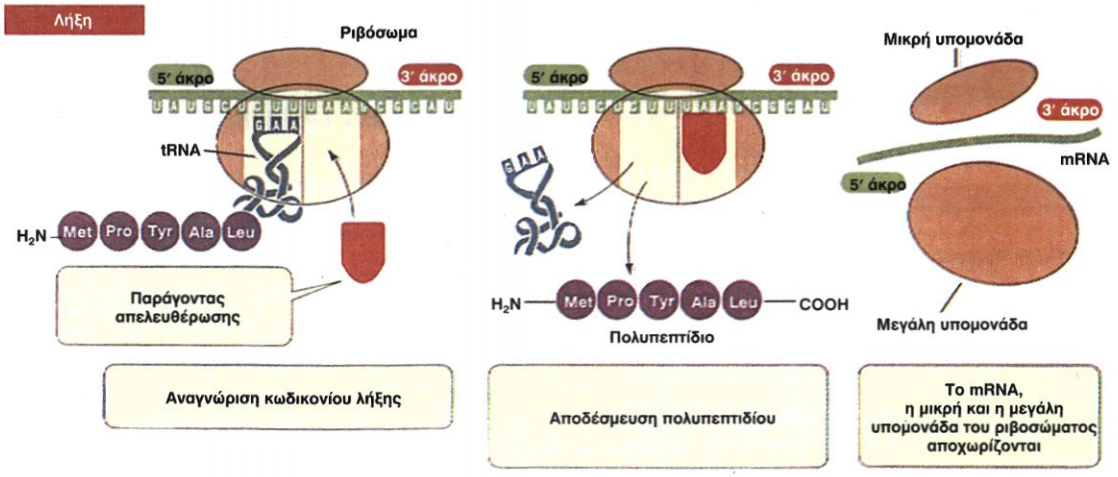
Λήξη: Η επιμήκυνση σταματά σε ένα κωδικόνιο λήξης (UGA, UAG ή UAA), επειδή δεν υπάρχουν tRNA που να αντιστοιχούν σε αυτά. Το τελευταίο tRNA απομακρύνεται από το ριβόσωμα και η πολυπεπτιδική αλυσίδα απελευθερώνεται (Εικόνα 2.11).

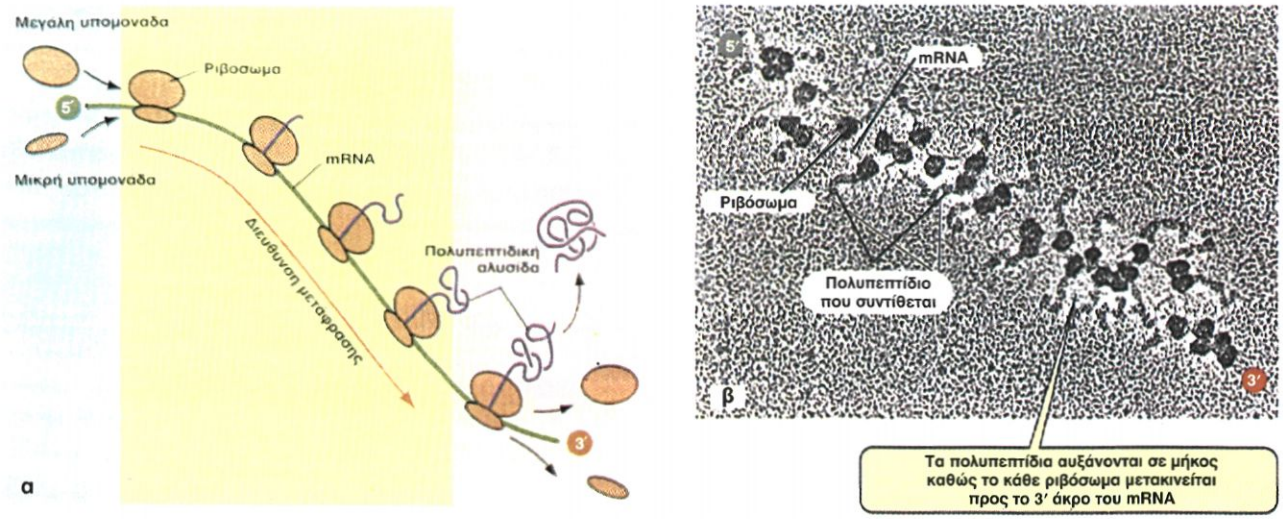
Σημειώνεται ότι πολλά μόρια mRNA μπορούν να μεταγράφονται από ένα μόνο γονίδιο. Πολλά ριβοσώματα μπο-

Εικόνα 2.10 Μετάφραση: Επιμήκυνση της πρωτεϊνοσύνθεσης.



Εικόνα 2.11 Λήξη της πρωτεϊνοσύνθεσης.





Εικόνα 2.12 α. Ένα πολύσωμα αποτελείται από πολλά ριβοσώματα τα οποία προσδένονται κατά μήκος ενός μορίου mRNA και το μεταφράζουν β. Εικόνα ενός πολυσώματος στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

ρούν να μεταφράζουν ταυτόχρονα ένα mRNA, το καθένα σε διαφορετικό σημείο κατά μήκος του μορίου. Αμέσως μόλις το ριβόσωμα έχει μεταφράσει τα πρώτα κωδικόνια, η θέση έναρξης του mRNA είναι ελεύθερη για την πρόσδεση ενός άλλου ριβοσώματος. Το σύμπλεγμα των ριβοσωμάτων με το mRNA ονομάζεται **πολύσωμα** (Εικόνα 2.12). Έτσι, η πρωτεϊνοσύνθεση είναι μια «οικονομική διαδικασία». Ένα κύτταρο μπορεί να παραγάγει μεγάλα ποσά μιας πρωτεΐνης από ένα ή από δύο αντίγραφα ενός γονιδίου.

Περίληψη

Ο μηχανισμός της αντιγραφής του DNA είναι ημισυντηρητικός, δηλαδή οι δύο αλυσίδες της διπλής έλικας ξετυλίγονται και καθεμιά λειτουργεί σαν καλούπι για τη σύνθεση μιας νέας συμπληρωματικής αλυσίδας. Κάθε θυγατρική διπλή έλικα που προκύπτει αποτελείται από μία μητρική και από μία νέα αλυσίδα. Η αντιγραφή του DNA είναι μια πολύπλοκη ενζυμική πορεία, που καταλύεται από πολλά ένζυμα. Σε κάθε τμήμα DNA που γίνεται η αντιγραφή, η σύνθεση της μιας αλυσίδας είναι συνεχής, ενώ της άλλης ασυνεχής. Η έναρξη της αντιγραφής γίνεται από ένα σημείο του DNA στους προκαρυωτικούς οργανισμούς και από πολλά στους ευκαρυωτικούς.

Ο μηχανισμός με τον οποίο η πληροφορία που υπάρχει στο DNA καθορίζει την αλληλουχία των αμινοξέων στις πρωτεΐνες, περιλαμβάνει δύο διαδικασίες: τη μεταγραφή και τη μετάφραση. Η μεταγραφή καταλύεται από την RNA πολυμεράση και γίνεται με κατεύθυνση 5΄→ 3΄. Κατά τη μεταγραφή παράγονται τρία είδη RNA: το mRNA, το tRNA και το rRNA στους προκαρυωτικούς και ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Επιπρόσθετα μόνο στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς παράγεται και snRNA.

Στους προκαρυωτικούς οργανισμούς η μεταγραφή και η μετάφραση γίνονται σχεδόν ταυτόχρονα. Στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς τα περισσότερα γονίδια, που αποτελούνται από κωδικές (εξώνια) και μη κωδικές (εσώνια) περιοχές, μεταγράφονται σε ένα πρόδρομο mRNA, το οποίο υφίσταται τη διαδικασία της ωρίμανσης: τα εσώνια αποκόπτονται και τα εξώνια συρράπτονται. Το ώριμο mRNA, που αποτελείται μόνο από τα εξώνια, μεταφέρεται στο κυτταρόπλασμα, όπου γίνεται η πρωτεϊνοσύνθεση.

Η αντιστοίχιση των νουκλεοτιδίων του mRNA με τα αμινοξέα των πρωτεϊνών γίνεται μέσω του γενετικού κώδικα, και κάθε κωδικόνιο-τριπλέτα του mRNA αντιστοιχεί σε ένα αμινοξύ.

Η πρωτεϊνοσύνθεση έχει τρία στάδια: την έναρξη την επιμήκυνση και τη λήξη. Κατά την έναρξη το mRNA συνδέεται με το ριβόσωμα και το πρώτο tRNA που μεταφέρει το αμινοξύ μεθειονίνη προσδένεται με το αντικωδικόνιό του στο κωδικόνιο έναρξης. Κατά την επιμήκυνση τα tRNA μεταφέρουν τα αμινοξέα που αντιστοιχούν στα κωδικόνια του mRNA, τα οποία συνδέονται μεταξύ τους με πεπτιδικούς δεσμούς. Έτσι, αναπτύσσεται η πολυπεπτιδική αλυσίδα. Στο κωδικόνιο λήξης σταματά η πρωτεϊνοσύνθεση και απελευθερώνεται η πολυπεπτιδική αλυσίδα. Πολλά ριβοσώματα κινούνται κατά μήκος του mRNA ταυτόχρονα, καθώς αυτό μεταφράζεται, και αποτελούν το πολύσωμα.

Ερωτήσεις

1. Ένα κύτταρο, που περιέχει ένα μόνο χρωμόσωμα, τοποθετείται σε θρεπτικό υλικό που περιέχει ραδιενεργό φώσφορο. Έτσι κάθε νέος κλώνος DNA που συντίθεται κατά την αντιγραφή του DNA θα είναι ραδιενεργός. Το κύτταρο αντιγράφει το DNA του και μετά διαιρείται. Τα θυγατρικά κύτταρα που βρίσκονται ακόμη στο ραδιενεργό θρεπτικό μέσο αντιγράφουν το DNA τους και διαιρούνται για άλλη μια φορά, οπότε έχουμε συνολικά τέσσερα κύτταρα. Σχεδιάστε το DNA σε κάθε ένα από τα 4 κύτταρα, παριστάνοντας το μη ραδιενεργό DNA με μια συνεχή γραμμή και το ραδιενεργό με διακεκομμένη γραμμή.

2. Για ποιο λόγο είναι απαραίτητο το ξετύλιγμα της έλικας του DNA πριν από την αντιγραφή; Ποιο είναι το ένζυμο που βοηθάει στο ξετύλιγμα;

3. Να τοποθετήσετε τα παρακάτω ένζυμα στη σειρά με την οποία συμμετέχουν στο διπλασιασμό του DNA.
α. DNA δεσμάση, β. DNA πολυμεράση, και γ. DNA ελικάση.

4. Ποια από τις παρακάτω πορείες καταλύεται από το ένζυμο αντίστροφη μεταγραφάση;
α. RNA → DNA
β. DNA → RNA
γ. RNA → RNA
δ. RNA → πρωτεΐνες

5. Αν το 20% των βάσεων ενός δίκλωνου τμήματος βακτηριακού DNA είναι αδενίνη-θυμίνη ποιο θα είναι το ποσοστό των βάσεων γουανίνη-κυτοσίνη του RNA που μεταγράφεται από αυτό το DNA;
α. 20% β. 60% γ. 80% δ. 40% ε. 30%

6. Σε ποια στάδια τη ροής της γενετικής πληροφορίας βρίσκει εφαρμογή η συμπληρωματικότητα των βάσεων;

7. Τμήμα μιας μη κωδικής αλυσίδας βακτηριακού DNA έχει την παρακάτω αλληλουχία βάσεων: 3′-TAC TGC ATA ATG ATT-5′. Ποια είναι η ακολουθία βάσεων της συμπληρωματικής αλυσίδας DNA; Ποια θα είναι η αλληλουχία των κωδικονίων στο mRNA που μεταγράφεται από αυτή την αλυσίδα; Ποια είναι τα αντικωδικόνια για κάθε κωδικόνιο του RNA; Χρησιμοποιήστε τον πίνακα με το γενετικό κώδικα για να καθορίσετε την ακολουθία των αμινοξέων του πεπτιδίου που θα συντεθεί από το mRNA. Μην παραλείψετε να συμπληρώσετε τα 5′ και 3′ άκρα των νουκλεϊκών οξέων.

8. Να συμπληρώσετε τις βάσεις και τα αμινοξέα στον παρακάτω πίνακα: (Να χρησιμοποιηθεί ο πίνακας με το γενετικό κώδικα, από τον οποίο θα επιλέξετε μόνο ένα κωδικόνιο για κάθε αμινοξύ).

Δίκλωνη αλυσίδα DNA	5′ G TA		AA		3′ (κωδική) CT
mRNA			U		U
Αντικωδικόνιο					
Αμινοξέα		λευκίνη		φαινυλαλανίνη	

9. Το μόριο της αιμοσφαιρίνης Α του ανθρώπου αποτελείται από 4 πολυπεπτιδικές αλυσίδες, δύο α όμοιες μεταξύ τους με 141 αμινοξέα η κάθε μία και δύο β όμοιες μεταξύ τους με 146 αμινοξέα η κάθε μία.
α. Πόσα είδη mRNA είναι υπεύθυνα για τη σύνθεση των τεσσάρων πολυπεπτιδικών αλυσίδων;
β. Από πόσες βάσεις αποτελείται η αλληλουχία του mRNA που αντιστοιχεί στις παραπάνω αλυσίδες;
(Δεν υπολογίζεται στο mRNA το κωδικόνιο λήξης).

10. Από πρόδρομα ερυθρά αιμοσφαίρια απομονώνουμε mRNA που κωδικοποιεί τη β-αλυσίδα της αιμοσφαιρίνης Α και το βάζουμε σε εκχύλισμα βακτηριακών κυττάρων. Παρατηρούμε σύνθεση β αλυσίδων της αιμοσφαιρίνης. Εξηγήστε το φαινόμενο.
(Το εκχύλισμα κυττάρων περιέχει όλα τα λειτουργικά συστατικά που είναι απαραίτητα για τη διαδικασία της πρωτεϊνοσύνθεσης).

11. Συμπληρώστε με τις σωστές λέξεις τα κενά στις παρακάτω προτάσεις:
α. Οι πρωτεΐνες αποτελούνται από ..... διαφορετικά είδη αμινοξέων, τα οποία είναι τοποθετημένα σε ....
β. Μία ..... είναι μια σειρά τριών βάσεων στο μόριο του DNA. Κωδικοποιεί ένα .....
γ. Η πρωτεϊνοσύνθεση πραγματοποιείται σε δομές του κυτταροπλάσματος που ονομάζονται .....
δ. Ένα μόριο ..... είναι «αντίγραφο» τμήματος του ..... και μεταφέρει τη γενετική πληροφορία από τον πυρήνα στα .....
ε. Η αλληλουχία των ..... στο ..... καθορίζει την ακολουθία των ..... στην πρωτεΐνη.

Γονιδιακή ρύθμιση: Ο έλεγχος της γονιδιακής έκφρασης

Η έκφραση των γονιδίων ρυθμίζεται με διάφορους μηχανισμούς

Ο όρος γονιδιακή έκφραση αναφέρεται συνήθως σε όλη τη διαδικασία με την οποία ένα γονίδιο ενεργοποιείται, για να παραγάγει μια πρωτεΐνη. Όμως σε κάθε κύτταρο δεν παράγονται όλες οι πρωτεΐνες σε κάθε χρονική στιγμή. Επιπλέον, επειδή το κύτταρο χρειάζεται κάθε πρωτεΐνη σε συγκεκριμένη ποσότητα, οι πρωτεΐνες ενός κυττάρου δεν παράγονται σε ίσες ποσότητες. Αν λοιπόν όλα τα γονίδια δούλευαν με τον ίδιο ρυθμό, ορισμένες πρωτεΐνες θα παράγονταν σε μεγάλες ποσότητες και άλλες σε ποσότητες που δε θα επαρκούσαν. Έτσι, είναι απαραίτητη η ύπαρξη και η λειτουργία ενός προγράμματος ρύθμισης της γονιδιακής έκφρασης, που παρέχει τις οδηγίες για το είδος και την ποσότητα των πρωτεϊνών οι οποίες πρέπει να παραχθούν σε κάθε συγκεκριμένη χρονική στιγμή.

Στα βακτήρια η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης αποσκοπεί κυρίως στην προσαρμογή του οργανισμού στις εναλλαγές του περιβάλλοντος, έτσι ώστε να εξασφαλίζονται οι καλύτερες συνθήκες για τη βασική λειτουργία του που είναι η αύξηση και η διαίρεση.

Τα κύτταρα ενός πολυκύτταρου οργανισμού, σε αντίθεση με τα κύτταρα που ανήκουν σε ένα βακτηριακό στέλεχος και είναι πανομοιότυπα μεταξύ τους, διαφέρουν στη δομή και στη λειτουργία τους. Η ζωή αρχίζει, όταν ένα γονιμοποιημένο ωάριο διαιρείται με μίτωση και παράγει τρισεκατομμύρια κύτταρα, που έχουν τα ίδια γονίδια. Στα αρχικά στάδια της εμβρυογένεσης τα κύτταρα εξειδικεύονται, για να εκτελέσουν επιμέρους λειτουργίες και η διαδικασία αυτή ονομάζεται **κυτταρική διαφοροποίηση**. Τα κύτταρα ενός πολύπλοκου πολυκύτταρου οργανισμού, όπως τα νευρικά, τα μυϊκά, τα ηπατικά, διαφέρουν στη μορφή και στη λειτουργία τους, αλλά έχουν όλα το ίδιο γενετικό υλικό, άρα και τα ίδια γονίδια. Τι τα κάνει τότε να διαφέρουν τόσο πολύ; Μολονότι όλα τα κύτταρα έχουν τις ίδιες γενετικές οδηγίες, έχουν αναπτύξει μηχανισμούς που τους επιτρέπουν να εκφράζουν τη γενετική τους πληροφορία επιλεκτικά και να ακολουθούν μόνο τις οδηγίες που χρειάζονται κάθε χρονική στιγμή. Κάθε κυτταρικός τύπος έχει εξειδικευμένη λειτουργία και πρέπει να υπάρχει πλήρης συντονισμός των λειτουργιών όλων των κυττάρων. Γι' αυτό, η τελειοποίηση των συστημάτων ελέγχου είναι αναγκαία και λόγω της μεγαλύτερης πολυπλοκότητας των ευκαρυωτικών κυττάρων, αλλά και επειδή πρέπει να ελεγχθεί προσεκτικά η ανάπτυξη των πολυκύτταρων οργανισμών. Κατά συνέπεια, η ρύθμιση των γονιδίων στα ευκαρυωτικά κύτταρα γίνεται σε πολλά επίπεδα.

Η γονιδιακή ρύθμιση στους προκαρυωτικούς οργανισμούς

Ένα βακτηριακό κύτταρο *E. coli* έχει περισσότερα από 4000 γονίδια. Μερικά γονίδια μεταγράφονται συνεχώς και κωδικοποιούν πρωτεΐνες, που χρειάζονται για τις βασικές λειτουργίες του κυττάρου. Άλλα γονίδια μεταγράφονται μόνο όταν το κύτταρο αναπτύσσεται σε ειδικές περιβαλλοντικές συνθήκες, επειδή τα προϊόντα των γονιδίων αυτών είναι απαραίτητα για την επιβίωση του κυττάρου στις συνθήκες αυτές. Ένα παράδειγμα είναι το εξής: τα βακτήρια *E. coli* χρησιμοποιούν ως πηγή άνθρακα το σάκχαρο γλυκόζη. Γεννιέται λοιπόν το ερώτημα: αν στο περιβάλλον αντί για γλυκόζη υπάρχει ο δισακχαρίτης λακτόζη, το βακτήριο έχει τη δυνατότητα να τον διασπάσει για να επιβιώσει ή θα πεθάνει, μολονότι γύρω του υπάρχει άφθονη τροφή; Το βακτήριο λύνει το πρόβλημα αυτό ρυθμίζοντας την παραγωγή των κατάλληλων ενζύμων, που θα διασπάσουν τη λακτόζη σε γλυκόζη και γαλακτόζη.

Οι μηχανισμοί με τους οποίους ένα κύτταρο «ξυπνά» ένα «κοιμισμένο» γονίδιο είναι οι πιο σημαντικοί και πολύπλοκοι της Μοριακής Βιολογίας. Οι αρχικές μελέτες της ρύθμισης των γονιδίων έγιναν από τους Jacob και Monod, το 1961. Οι ερευνητές περιέγραψαν την ικανότητα του βακτηρίου *E. coli* να παραγάγει τα τρία απαραίτητα ένζυμα που χρειάζεται για να μεταβολίσει το δισακχαρίτη λακτόζη, όταν δεν υπάρχει γλυκόζη στην τροφή του. Οι Jacob και Monod απέδειξαν με γενετικές μελέτες ότι τα γονίδια που κωδικοποιούν τα τρία αυτά ένζυμα βρίσκονται το ένα δίπλα στο άλλο πάνω στο γονιδίωμα του βακτηρίου και αποτελούν μια μονάδα, που την ονόμασαν **οπερόνιο της λακτόζης**.

Σε αυτό περιλαμβάνονται εκτός από αυτά τα γονίδια, που ονομάζονται **δομικά**, και αλληλουχίες DNA που ρυθμίζουν τη μεταγραφή τους. Οι αλληλουχίες αυτές που βρίσκονται μπροστά από τα δομικά γονίδια είναι κατά σειρά ένα **ρυθμιστικό γονίδιο**, ο **υποκινητής** και ο **χειριστής**.

Το οπερόνιο της λακτόζης δε μεταγράφεται ούτε μεταφράζεται, όταν απουσιάζει από το θρεπτικό υλικό η λακτόζη. Τότε λέμε ότι τα γονίδια που το αποτελούν βρίσκονται υπό **καταστολή**. Πώς επιτυγχάνεται η καταστολή; Δύο είναι τα ρυθμιστικά μόρια: μια αλληλουχία DNA, που ονομάζεται χειριστής και βρίσκεται μεταξύ του υποκινητή και του πρώτου γονιδίου, και μια ρυθμιστική **πρωτεΐνη-καταστολέας**. Όταν απουσιάζει η λακτόζη ο καταστολέας προσδένεται ισχυρά στο χειριστή και εμποδίζει την RNA πολυμεράση να αρχίσει τη μεταγραφή των γονιδίων του οπερονίου. (Εικόνα 2.13α). Ο καταστολέας κωδικοποιείται από ένα ρυθμιστικό γονίδιο, που βρίσκεται μπροστά από τον υποκινητή. Το ρυθμιστικό γονίδιο μεταγράφεται συνεχώς και παράγει λίγα μόρια του καταστολέα. Τα μόρια αυτά προσδένονται συνεχώς στο χειριστή.

Όταν στο θρεπτικό υλικό υπάρχει μόνο λακτόζη, τότε ο ίδιος ο δισακχαρίτης προσδένεται στον καταστολέα και

δεν του επιτρέπει να προσδεθεί στο χειριστή. Τότε η RNA πολυμεράση είναι ελεύθερη να αρχίσει τη μεταγραφή. Δηλαδή η λακτόζη λειτουργεί ως **επαγωγέας** της μεταγραφής των γονιδίων του οπερονίου. Τότε τα γονίδια αρχίζουν να «εκφράζονται», δηλαδή να μεταγράφονται και να συνθέτουν τα ένζυμα. Τα τρία ένζυμα μεταφράζονται ταυτόχρονα από το ίδιο μόριο mRNA το οποίο περιέχει κωδικόνια έναρξης και λήξης για κάθε ένζυμο (Εικόνα 2.13β). Συμπερασματικά, η ίδια η λακτόζη ενεργοποιεί τη διαδικασία για την αποικοδόμησή της. Όταν η λακτόζη διασπαστεί πλήρως, τότε η πρωτεΐνη καταστολέας είναι ελεύθερη να προσδεθεί στο χειριστή και να καταστείλει τη λειτουργία των τριών γονιδίων.

Στο γονιδίωμα των προκαρυωτικών οργανισμών τα γονίδια των ενζύμων που παίρνουν μέρος σε μια μεταβολική οδό, όπως η διάσπαση της λακτόζης ή η βιοσύνθεση διάφορων αμινοξέων, οργανώνονται σε οπερόνια, δηλαδή σε ομάδες που υπόκεινται σε κοινό έλεγχο της έκφρασής τους.

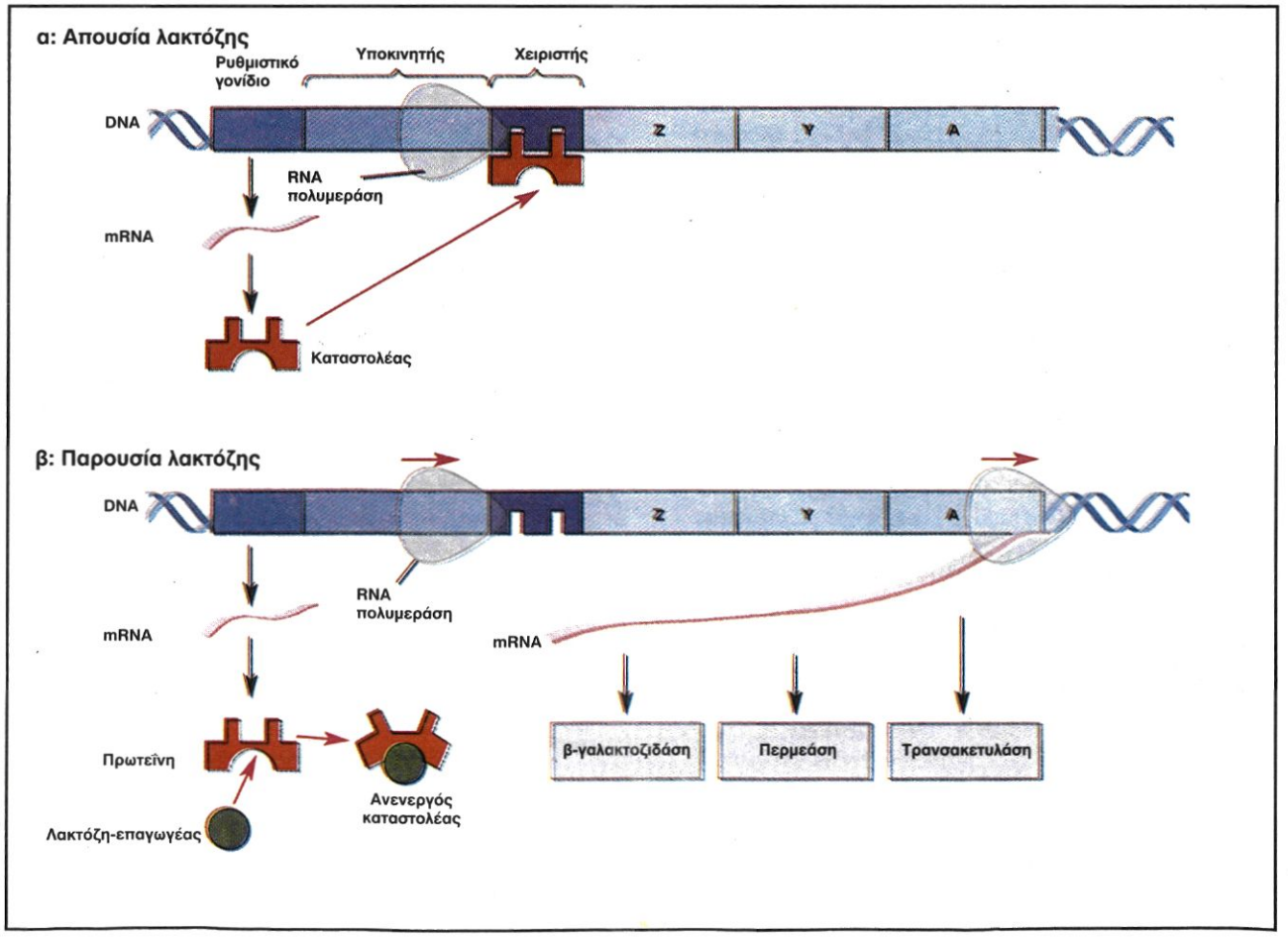
Η γονιδιακή ρύθμιση στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς

Η ρύθμιση της έκφρασης των γονιδίων στα ευκαρυωτικά κύτταρα γίνεται με ιδιαίτερα πολύπλοκους μηχανισμούς και αποτελεί σήμερα αντικείμενο εντατικής ερευνητικής μελέτης. Η πλήρης διαλεύκανση των μηχανισμών αυτών θα δώσει απαντήσεις για το πώς, όταν οι μηχανισμοί αυτοί απορρυθμίζονται, τα κύτταρα «βγαίνουν» από το αυστηρό πρόγραμμα της λειτουργίας τους και γίνονται καρκινικά.

Στα ευκαρυωτικά κύτταρα η γονιδιακή έκφραση ρυθμίζεται σε τέσσερα επίπεδα:

- **Στο επίπεδο της μεταγραφής**. Ένας αριθμός μηχανισμών ελέγχουν ποια γονίδια θα μεταγραφούν ή/και με ποια ταχύτητα θα γίνει η μεταγραφή. Το DNA των ευκαρυωτικών κυττάρων δεν οργανώνεται σε οπερόνια αλλά κάθε γονίδιο έχει το δικό του υποκινητή και μετα-

Εικόνα 2.13 Το οπερόνιο της λακτόζης.



γράφεται αυτόνομα. Η RNA πολυμεράση λειτουργεί (όπως και στους προκαρυωτικούς οργανισμούς) με τη βοήθεια πρωτεϊνών, που ονομάζονται μεταγραφικοί παράγοντες. Μόνο που στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς οι μεταγραφικοί παράγοντες παρουσιάζουν τεράστια ποικιλία. Κάθε κυτταρικός τύπος περιέχει διαφορετικά είδη μεταγραφικών παραγόντων. Διαφορετικός συνδυασμός μεταγραφικών παραγόντων ρυθμίζει τη μεταγραφή κάθε γονιδίου. Μόνο όταν ο σωστός συνδυασμός των μεταγραφικών παραγόντων προσδεθεί στον υποκινητή ενός γονιδίου, αρχίζει η RNA πολυμεράση τη μεταγραφή ενός γονιδίου.

- **Στο επίπεδο μετά τη μεταγραφή**. Περιλαμβάνονται οι μηχανισμοί με τους οποίους γίνεται η ωρίμανση του πρόδρομου mRNA και καθορίζεται η ταχύτητα με την οποία το ώριμο mRNA αφήνει τον πυρήνα και εισέρχεται στο κυτταρόπλασμα.
- **Στο επίπεδο της μετάφρασης**. Ο χρόνος που «ζουν» τα μόρια mRNA στο κυτταρόπλασμα δεν είναι ο ίδιος για όλα τα είδη RNA, επειδή μετά από κάποιο χρονικό διάστημα αποικοδομούνται. Επίσης, ποικίλλει και η ικανότητα πρόσδεσης του mRNA στα ριβοσώματα.
- **Στο επίπεδο μετά τη μετάφραση**. Ακόμη και όταν γίνει η πρωτεϊνοσύνθεση και παραχθεί η κατάλληλη πρωτεΐνη, μπορεί να πρέπει να υποστεί τροποποιήσεις, για να γίνει βιολογικά λειτουργική.

Εργασίες - Δραστηριότητες

Χρησιμοποιώντας απλά υλικά, όπως χαρτόνι, κατασκευάστε μοντέλο DNA το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως εποπτικό υλικό για την κατανόηση των λειτουργιών της αντιγραφής και της μεταγραφής.

Περίληψη

Η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης στους προκαρυωτικούς οργανισμούς γίνεται κυρίως στο επίπεδο της μεταγραφής. Τα ρυθμιζόμενα γονίδια οργανώνονται σε οπερόνια, από τα οποία πιο γνωστό είναι το οπερόνιο της λακτόζης. Το οπερόνιο της λακτόζης αποτελείται από τρία δομικά γονίδια που κωδικοποιούν τα ένζυμα τα οποία διασπούν τη λακτόζη. Αυτά ρυθμίζονται από δύο αλληλουχίες DNA: έναν υποκινητή και ένα χειριστή. Ο χειριστής παίζει το ρόλο του μοριακού διακόπτη του οπερονίου. Σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση παίζει ένα ρυθμιστικό γονίδιο, που κωδικοποιεί μια πρωτεΐνη-καταστολέα. Εάν απουσιάζει η λακτόζη ο καταστολέας προσδένεται στο χειριστή και καταστέλλει τη λειτουργία και των τριών γονιδίων. Εάν υπάρχει λακτόζη, αυτή προσδένεται στον καταστολέα, εμποδίζει την πρόσδεσή του στο χειριστή και επιτρέπει τη μεταγραφή και τη μετάφραση των τριών γονιδίων. Στους πολυκύτταρους ευκαρυωτικούς οργανισμούς τα γονίδια δεν οργανώνονται σε οπερόνια, αλλά καθένα ρυθμίζεται ανεξάρτητα. Ο έλεγχος της ρύθμισης είναι πολύ πιο πολύπλοκος και γίνεται σε τέσσερα επίπεδα: κατά τη μεταγραφή, μετά τη μεταγραφή, κατά τη μετάφραση και μετά τη μετάφραση.

Ερωτήσεις

1. Εντοπίστε δύο διαφορές στον έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης ανάμεσα στους προκαρυωτικούς και στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς.

2. Τι είναι το οπερόνιο; Σε ποιους οργανισμούς συναντάται;

3. Στο οπερόνιο της λακτόζης ο καταστολέας προσδένεται:
α. στον υποκινητή
β. στην αρχή του πρώτου γονιδίου
γ. στο χειριστή
δ. στο mRNA
ε. στο ρυθμιστικό γονίδιο.

4. Στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς η περιοχή του γονιδίου που μεταφράζεται είναι:
α. το οπερόνιο
β. ο υποκινητής
γ. ο χειριστής
δ. τα εσώνια
ε. τα εξώνια
στ. ο καταστολέας.

5. Τι είναι ο υποκινητής;
α. περιοχή στην οποία προσδένεται ο καταστολέας
β. περιοχή που προσδένεται η RNA πολυμεράση
γ. γονίδιο που κωδικοποιεί την πρωτεΐνη καταστολέα
δ. ένα δομικό γονίδιο
ε. ένα οπερόνιο.

6. Η ρύθμιση της γονιδιακής έκφρασης είναι πιο πολύπλοκη στους πολυκύτταρους οργανισμούς επειδή:
α. τα ευκαρυωτικά κύτταρα είναι πολύ μικρότερα
β. σε έναν πολυκύτταρο οργανισμό τα διάφορα κύτταρα εξειδικεύονται σε διαφορετικές λειτουργίες
γ. το περιβάλλον γύρω από έναν πολυκύτταρο οργανισμό αλλάζει συνεχώς
δ. οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί έχουν λιγότερα γονίδια, γι' αυτό κάθε γονίδιο πρέπει να έχει περισσότερες από μία λειτουργίες
ε. τα γονίδια των ευκαρυωτικών οργανισμών κωδικοποιούν πρωτεΐνες.
Ποια από τις παραπάνω προτάσεις είναι η σωστή; Αιτιολογήστε την απάντησή σας.

7. Τα κύτταρα του ήπατος, του δέρματος και τα μυϊκά κύτταρα είναι διαφορετικά επειδή:
α. υπάρχουν διαφορετικά είδη γονιδίων στα κύτταρα
β. βρίσκονται σε διαφορετικά όργανα
γ. διαφορετικά γονίδια λειτουργούν σε κάθε είδος κυττάρου
δ. περιέχουν διαφορετικούς αριθμούς γονιδίων
ε. διαφορετικές μεταλλάξεις έχουν συμβεί σε κάθε είδος κυττάρου.
Ποια από τις παραπάνω προτάσεις είναι σωστή;

8. Σε στέλεχος του βακτηρίου *E. coli* δε λειτουργεί το γονίδιο που παράγει τον καταστολέα του οπερόνιου της λακτόζης. Ποιο είναι το αποτέλεσμα σε σχέση με την παραγωγή των ενζύμων που μεταβολίζουν τη λακτόζη όταν το βακτήριο αναπτύσσεται:
α. παρουσία λακτόζης;
β. απουσία λακτόζης;

Ιοί

Ιός της γρίπης

κεφάλαιο

3

3. Ιοί

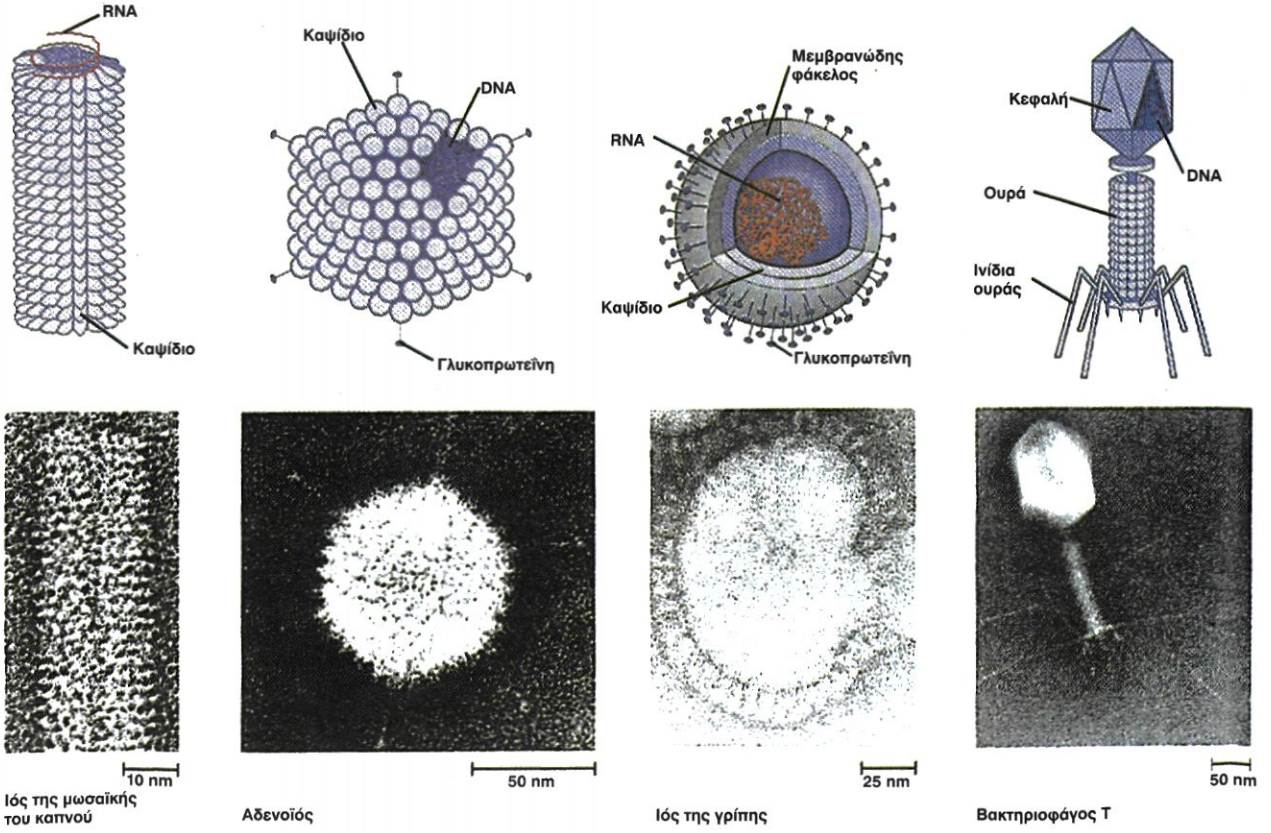
Οι ιοί και τα βακτήρια είναι οι απλούστερες μορφές ζωής. Έχουν χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα για τη διερεύνηση των θεμελιωδών μηχανισμών της ζωής και έχουν βοηθήσει πολύ στην κατανόηση της λειτουργίας των πολύπλοκων οργανισμών σε μοριακό επίπεδο. Επίσης η μελέτη τους παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον, γιατί συνεισφέρει σημαντικά στην ανάπτυξη μεθόδων για τη θεραπεία των ασθενειών τις οποίες προκαλούν. Παράλληλα, έχουν χρησιμοποιηθεί ως «ζωντανά» εργαλεία για την ανάπτυξη των νέων τεχνολογιών, που δίνουν στους ερευνητές τη δυνατότητα του χειρισμού και της μεταφοράς του γενετικού υλικού, και έχουν συνεισφέρει σημαντικά τόσο στη βασική έρευνα όσο και στις εφαρμογές της.

Οι ιοί ανακαλύφθηκαν το 1883 από τον Mayer, αλλά θεωρήθηκαν ότι είναι οι μυστηριώδεις παράγοντες που προκαλούν την ασθένεια «μωσαϊκή του καπνού». Η ασθένεια αυτή ονομάστηκε έτσι επειδή τα φύλλα του καπνού, που έχουν προσβληθεί από τον ιό, είναι γεμάτα κηλίδες. Αρχικά, οι ιοί χαρακτηρίστηκαν ως πολύ μικρά μολυσματικά βακτήρια, που δεν είναι ορατά στο μικροσκόπιο. Δέκα χρόνια αργότερα ο Ρώσος φυσιοδίφης Ivanowski διαπίστωσε ότι οι παθογόνοι αυτοί παράγοντες περνούσαν από πολύ λεπτούς ηθμούς, που μπορούσαν να συγκρατούν όλα τα βακτήρια. Διαπιστώθηκε επίσης ότι είναι ικανοί να πολλαπλασιάζονται μόνο μέσα σε ζωντανά κύτταρα και όχι σε θρεπτικά υλικά, όπως συμβαίνει με τα βακτήρια. Τελικά, το 1935, ο ιός της μωσαϊκής του καπνού απομονώθηκε και μελετήθηκε από τον Stanley. Τότε διαπιστώθηκε ότι είναι ένα αναπαραγόμενο σωματίδιο, πολύ απλούστερο από τα βακτήρια, και ότι αποτελείται από RNA και πρωτεΐνες.

Σε αντίθεση με το κύτταρο, που είναι η θεμελιώδης μονάδα της ζωής, ο ιός δεν είναι τίποτε περισσότερο από νουκλεϊκό οξύ και πρωτεΐνες. Μόνο όταν βρεθεί μέσα σε ένα κύτταρο-ξενιστή, ο ιός «ξυπνά» και εκφράζει τη χαρακτηριστικότερη ιδιότητα των ζωντανών οργανισμών, δηλαδή την αναπαραγωγή. Οι ιοί έχουν τις εξής ιδιότητες:

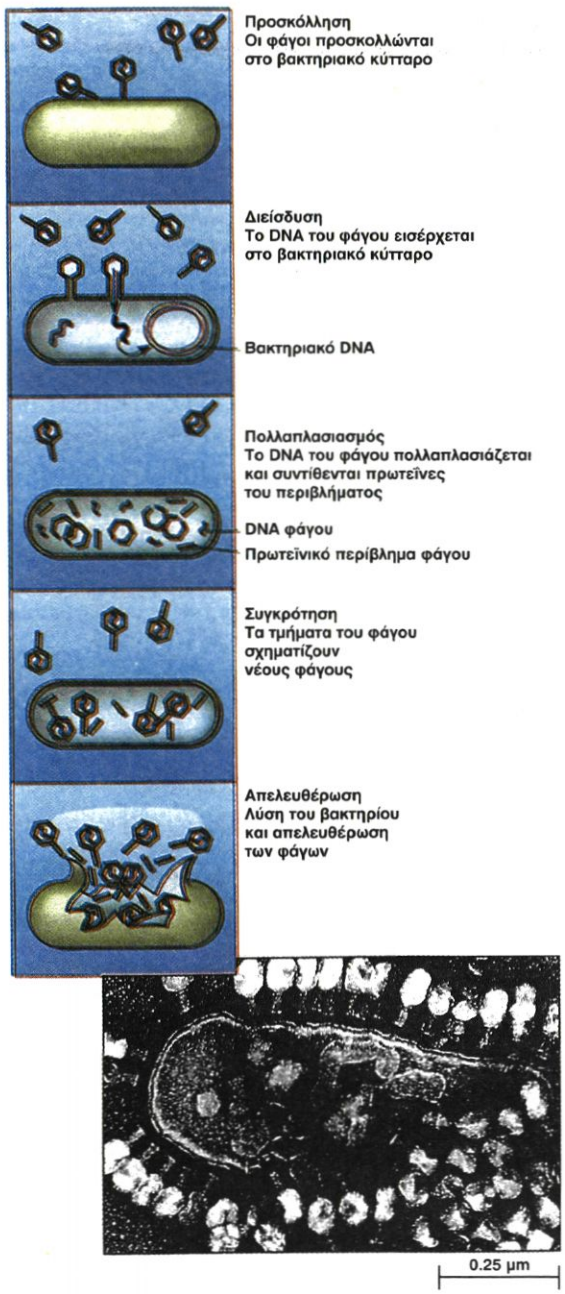
- Είναι ενδοκυτταρικά παράσιτα και χρειάζονται υποχρεωτικά ένα κύτταρο-ξενιστή, για να πραγματοποιήσουν όλες τις βιολογικές λειτουργίες τους που είναι απαραίτητες για την αναπαραγωγή τους.

Εικόνα 3.1 Οι ιοί αποτελούνται από ένα πρωτεϊνικό περίβλημα μέσα στο οποίο βρίσκεται το γενετικό υλικό (DNA ή RNA), και μερικές φορές περιβάλλονται από μεμβρανώδη φάκελο. Οι ιοί διαφέρουν σημαντικά στο μέγεθος και στο σχήμα. Οι πιο κοινοί τύποι ιών παρουσιάζονται στην εικόνα.



- Είναι μικρότεροι και από τα πιο μικρά βακτήρια και είναι ορατοί μόνο με τη βοήθεια ηλεκτρονικού μικροσκοπίου.
- Έχουν ένα μόνο τύπο νουκλεϊκών οξέων, είτε DNA είτε RNA, αλλά ποτέ και τα δύο. Το νουκλεϊκό οξύ του ιού «υποχρεώνει» το κύτταρο-ξενιστή να το αναπαράγει με ακρίβεια, όπως ακριβώς κάνει και με το δικό του γονιδίωμα.
- Δεν ανιχνεύονται αμέσως μετά την είσοδό τους στο κύτταρο-ξενιστή, επειδή μεσολαβεί κάποιο χρονικό διάστημα κατά το οποίο αντιγράφεται το γενετικό τους υλικό και παράγονται οι πρωτεΐνες τους. Η φάση αυτή τελειώνει όταν συγκροτηθούν οι νέοι ιοί.

α



Δομή των ιών

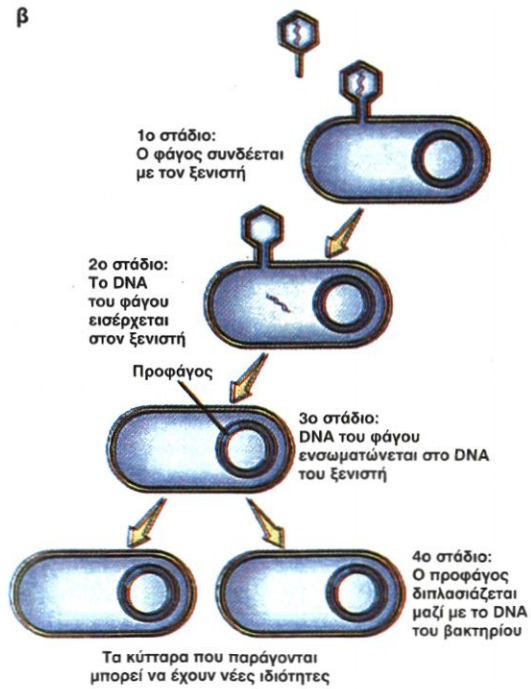
Οι ιοί είναι μολυσματικά σωματίδια, που αποτελούνται από ένα πρωτεϊνικό περίβλημα μέσα στο οποίο υπάρχει νουκλεϊκό οξύ, που αποτελεί το γενετικό υλικό τους. Το γενετικό υλικό τους είναι DNA ή RNA, μονόκλωνο ή δίκλωνο ανάλογα με το είδος του ιού. Το πρωτεϊνικό περίβλημα είναι ένα καψίδιο ποικίλου σχήματος (ελικοειδές-ραβδοειδές, πολυεδρικό ή συνδυασμός και των δύο) και αποτελείται από πολλά μόρια της ίδιας πρωτεΐνης (υπομονάδες). Μερικοί ζωικοί ιοί έχουν έξω από το καψίδιο ένα μεμβρανώδη φάκελο, που αποτελείται από υλικό τόσο του κυττάρου ξενιστή όσο και του ιού (Εικόνα 3.1). Οι ιοί, ανάλογα με το είδος του ξενιστή, ταξινομούνται στους ιούς των βακτηρίων που ονομάζονται **βακτηριοφάγοι** ή **φάγοι**, στους **ιούς των ζώων** και στους **ιούς των φυτών**.

Κύκλος ζωής των βακτηριοφάγων

Όπως όλοι οι ιοί, οι φάγοι έχουν ένα εξωτερικό πρωτεϊνικό κάλυμμα, την κεφαλή, το οποίο περιβάλλει το γενετικό υλικό τους που είναι δίκλωνο DNA (σε ορισμένες περιπτώσεις μονόκλωνο DNA ή RNA). Οι φάγοι έχουν επίσης μια ουρά, με την οποία προσκολλώνται στο κύτταρο-ξενιστή. Η ουρά έχει την ικανότητα να αναγνωρίζει το κατάλληλο βακτήριο από τους υποδοχείς που έχει στην επιφάνεια της μεμβράνης του. Αρχικά, μια πρωτεΐνη της ου-

Εικόνα 3.2 Κύκλος ζωής βακτηριοφάγου. α. Λυτικός κύκλος, β. Λυσιγονικός κύκλος.

β



ράς αντιδρά με τον υποδοχέα. Μέρος της ουράς διαπερνά το κυτταρικό τοίχωμα του βακτηρίου και το DNA του φάγου εισχωρεί μέσα στο βακτήριο. Το DNA αρχίζει να χρησιμοποιεί τα υλικά του βακτηρίου, όπως τα ένζυμα, το ATP και διάφορα κυτταρικά συστατικά, για την αναπαραγωγή του. Αρχικά, συντίθενται αντίγραφα του DNA του φάγου και πρωτεΐνες του περιβλήματός του, τα οποία στη συνέχεια συνενώνονται και σχηματίζουν πολλούς ιούς.

Όταν τα χημικά μόρια του κυττάρου που χρησιμοποιεί ο ιός για την αναπαραγωγή του τελειώσουν, τότε ένα από τα γονίδια του φάγου παράγει το ένζυμο λυσοζύμη, η οποία διασπά το κυτταρικό τοίχωμα αφήνοντας ελεύθερους διακόσιους περίπου νέους φάγους. Το άνοιγμα των βακτηρίων από τους φάγους ονομάζεται **λύση**, και ο κύκλος ζωής του φάγου **λυτικός κύκλος** (Εικόνα 3.2α). Στη συνέχεια, οι νέοι φάγοι συνεχίζουν τον αναπαραγωγικό τους κύκλο προσβάλλοντας και άλλα βακτήρια.

Μερικές φορές ο φάγος μολύνει τον ξενιστή χωρίς να τον καταστρέφει. Το DNA του φάγου ενσωματώνεται στο βακτηριακό DNA και όταν το βακτήριο αναπαράγεται, αντιγράφεται μαζί του. Αυτός ο κύκλος ζωής του φάγου ονομάζεται **λυσιγονικός κύκλος** (Εικόνα 3.2β). Κάτω από ορισμένες συνθήκες, για παράδειγμα με την επίδραση υπεριώδους ακτινοβολίας, ο λυσιγονικός κύκλος μπορεί να μετατραπεί σε λυτικό.

Ιοί των ζώων

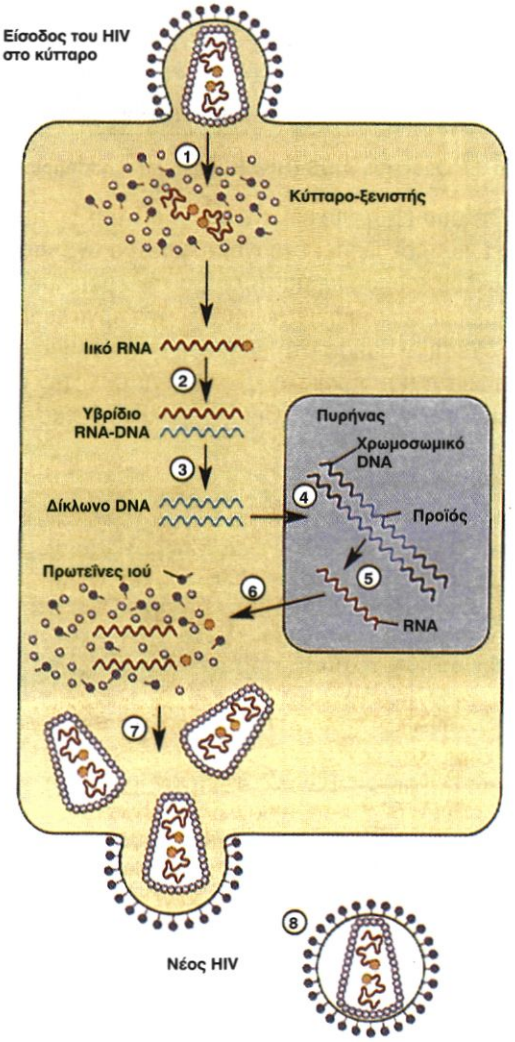
Οι ιοί των ζώων διακρίνονται σε δύο κατηγορίες, ανάλογα με το είδος του γενετικού υλικού τους, τους **DNA ιούς** και τους **RNA ιούς**. Οι ιοί των ζώων συχνά περιβάλλονται από ένα μεμβρανώδη φάκελο, που βρίσκεται έξω από το καψίδιο και τους επιτρέπει να μπουν στο ζωικό κύτταρο. Ο φάκελος αυτός έχει σύσταση και δομή μεμβράνης ζωικού κυττάρου όπως η κυτταρική μεμβράνη του ξενιστή, και έχει στην εξωτερική του επιφάνεια γλυκοπρωτεΐνες ιικής προέλευσης.

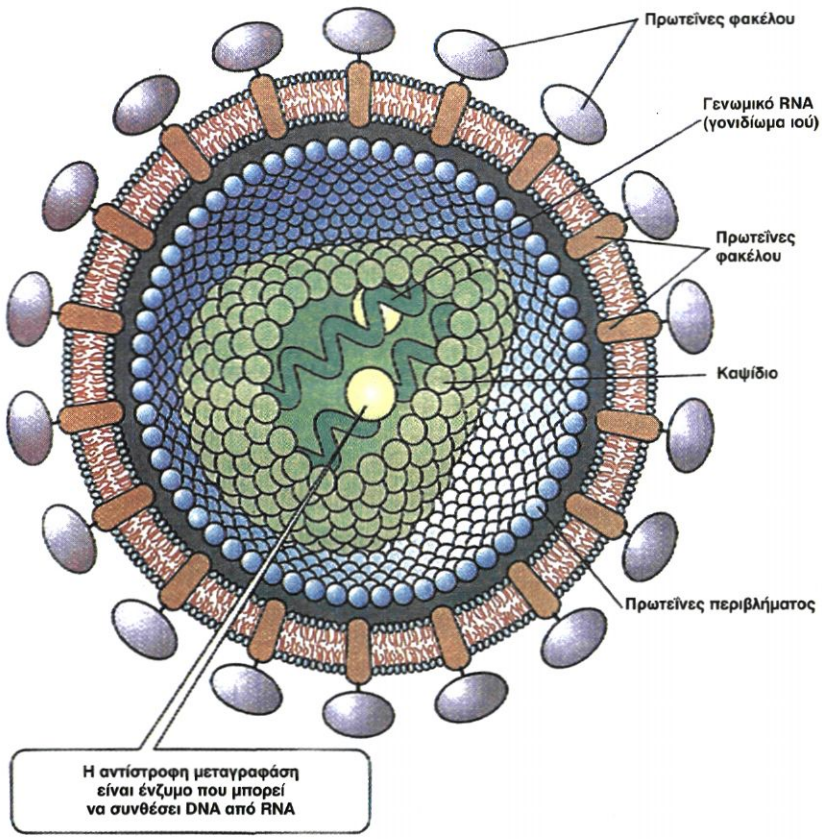
Οι πιο πολύπλοκοι από τους RNA ιούς είναι οι **ρετροϊοί** που θεωρούνται υπεύθυνοι για την πρόκληση καρκίνου στα ζώα και στον άνθρωπο. Οι ιοί αυτοί έχουν ένα ένζυμο, την **αντίστροφη μεταγραφάση**, που μπορεί να συνθέσει DNA χρησιμοποιώντας ως καλούπι το RNA του ιού. Όταν ο ρετροϊός μολύνει το κύτταρο γίνεται συγχώνευση του μεμβρανώδους φακέλου του με τη μεμβράνη του κυττάρου (ενδοκύττωση). Έτσι το καψίδιο μαζί με το γονιδίωμα του ιού εισέρχεται στο κύτταρο. Το καψίδιο αποικοδομείται με τη δράση κυτταρικών ενζύμων και το RNA του ιού χρησιμεύει ως καλούπι για τη σύνθεση μιας συμπληρωματικής αλυσίδας DNA από την αντίστροφη μεταγραφάση. Δημιουργείται έτσι ένα υβρίδιο DNA-RNA. Το RNA διασπάται με ειδικό ένζυμο και με καλούπι το DNA παράγεται η δεύτερη αλυσίδα του DNA. Το δίκλωνο αυτό DNA ενσωματώνεται σε κάποιο σημείο του γονιδιώματος του κυττάρου-ξενιστή και μεταγράφεται σε mRNA, το οποίο λειτουργεί αφ' ενός μεν ως ιικό mRNA και συνθέτει τις ιικές πρωτεΐνες και αφ' ετέρου αποτελεί το γενετικό υλικό ενός νέου ιού (Εικόνα 3.3).

Στην κατηγορία των ρετροϊών ανήκει και ο HIV, ο ιός του AIDS. Ο ιός αυτός καταστρέφει τα Τ-λεμφοκύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος. Επειδή έτσι εξασθενίζει το ανοσοποιητικό σύστημα, αυξάνεται η ευαισθησία του οργανισμού σε διάφορες μολύνσεις, και σε πολλές περιπτώσεις οδηγεί σε καρκινογένεση (Εικονα 3.4).

Μερικοί ιοί, που το γενετικό υλικό τους είναι δίκλωνο DNA, όπως ο ιός του έρπητος, αναπαράγονται μέσα στον πυρήνα του κυττάρου-ξενιστή και το DNA τους μπορεί να ενσωματωθεί στο γονιδίωμα του κυττάρου, όπως συμβαίνει με το DNA των βακτηριοφάγων στο λυσιγονικό κύκλο, και να παραμείνει σε λανθάνουσα κατάσταση. Κατά και-

Εικόνα 3.3 Κύκλος ζωής ρετροϊού.





Εικόνα 3.4 Ο ιός του AIDS (HIV: Human Immunodeficiency Virus).

ρούς, η φυσική ή ψυχική καταπόνηση του οργανισμού μπορεί να προκαλέσει ενεργοποίηση του αναπαραγωγικού κύκλου του ιού με αποτέλεσμα την εμφάνιση μολύνσεων με δυσάρεστα συμπτώματα για τον οργανισμό.

Η σχέση ανάμεσα στη μόλυνση από έναν ιό και στα συμπτώματα που προκαλούνται από αυτήν στον οργανισμό είναι συχνά ασαφής. Οι ιοί μπορεί να καταστρέφουν τα κύτταρα-ξενιστές, επειδή προκαλούν απελευθέρωση υδρολυτικών ενζύμων από τα λυσοσώματα του κυττάρου. Επίσης, τα μολυσμένα από τον ιό κύτταρα μπορεί να παράγουν τοξίνες. Το μέγεθος της βλάβης που προκαλεί ένας ιός εξαρτάται εν μέρει από την ικανότητα του ιστού που μολύνεται από αυτόν να αναγεννηθεί με κυτταρική διαίρεση. Για παράδειγμα, στο κοινό κρυολό-

Περισσότερα είδη ιών: DNA ιοί

Οι **DNA ιοί** είναι δύο ειδών: α. αυτοί που έχουν ως γενετικό υλικό ένα μόριο δίκλωνου DNA, όπως οι αδενοϊοί, οι ερπητοϊοί, οι ιοί της ευλογιάς, ο ιός της δαμαλίτιδας, και β. αυτοί που έχουν ως γενετικό υλικό ένα μόριο μονόκλωνου DNA. Το μονόκλωνο DNA λειτουργεί ως καλούπι για τη σύνθεση της συμπληρωματικής αλυσίδας του. Έτσι, το μονόκλωνο DNA μετατρέπεται σε δίκλωνο. Το δίκλωνο DNA αντιγράφεται και μεταγράφεται σε mRNA, το οποίο παράγει τις πρωτεΐνες του ιού.

RNA ιοί

Οι **RNA ιοί** διακρίνονται σε: α. RNA ιούς που έχουν ως γενετικό υλικό δίκλωνο RNA. Οι δύο αλυσίδες του RNA χαρακτηρίζονται ως (+) και (-). Η (-) αλυσίδα RNA λειτουργεί ως καλούπι για τη σύνθεση των (+) αλυσίδων, που είναι το mRNA. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν οι ρεοϊοί που προκαλούν συνήθως διάρροια.

β. RNA ιούς, που έχουν ως γενετικό υλικό μονόκλωνο RNA (+), το οποίο είναι ταυτόχρονα το mRNA του ιού. Το RNA του ιού όταν εισέλθει στο κύτταρο, αντιγράφεται σε μια (-) αλυσίδα, που λειτουργεί ως καλούπι για τη σύνθεση περισσότερων (+) αλυσίδων. Στους ιούς αυτούς ανήκει ο ιός της πολιομυελίτιδας.

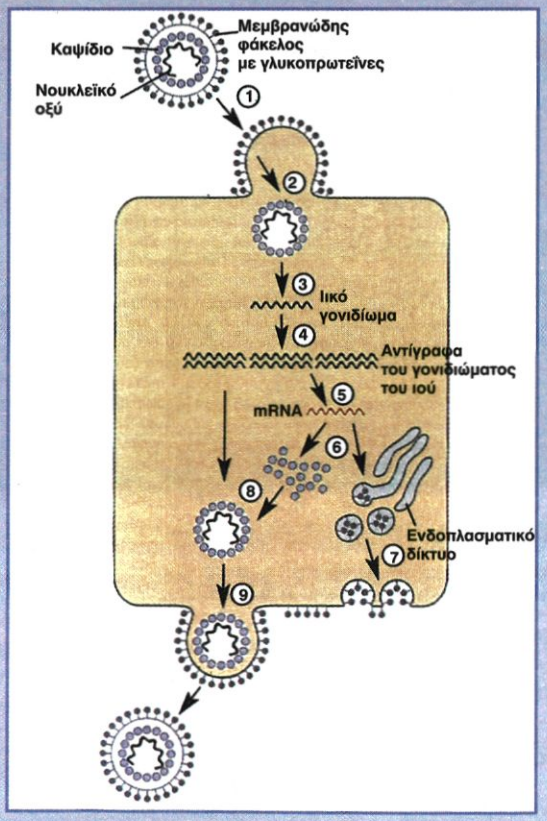
γ. RNA ιούς, που έχουν ως γενετικό υλικό μονόκλωνο RNA (-), το οποίο λειτουργεί ως καλούπι για τη σύνθεση του mRNA. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν οι ιοί που προκαλούν ιλαρά και μαγουλάδες, ο ιός της γρίπης και ο ιός Embola.

δ. RNA ιούς, που είναι γνωστοί ως ρετροϊοί επειδή το μονόκλωνο RNA (+) είναι καλούπι για το σχηματισμό ενός μορίου DNA.

Αναπαραγωγή των RNA ιών με μονόκλωνο RNA

Οι ιοί, με τη βοήθεια των γλυκοπρωτεϊνών, που υπάρχουν στο φάκελό τους και αναγνωρίζονται από ειδικούς υποδοχείς των κυττάρων-ξενιστών, προσδένονται σ' αυτά και γίνεται συγχώνευση του μεμβρανώδους φακέλου τους με τη μεμβράνη του κυττάρου (ενδοκύττωση). Έτσι, το καψίδιο με το γονιδίωμα του ιού εισέρχεται στο κύτταρο. Το καψίδιο αποικοδομείται από τη δράση κυτταρικών ενζύμων και το RNA του ιού (-) λειτουργεί ως καλούπι για τη σύνθεση της συμπληρωματικής αλυσίδας RNA (+). Το συμπληρωματικό αυτό RNA λειτουργεί ως mRNA για την παραγωγή των πρωτεϊνών του καψιδίου του ιού και των γλυκοπρωτεϊνών της εξωτερικής μεμβράνης. Λειτουργεί επίσης και ως καλούπι για τη σύνθεση του RNA του ιού. Οι πρωτεΐνες του καψιδίου περιβάλλουν το RNA, ενώ οι γλυκοπρωτεΐνες μεταφέρονται μέσω του ενδοπλασματικού δικτύου στη μεμβράνη του κυττάρου. Οι ιοί εξέρχονται με εκβλάστηση από τα κύτταρα, αφού περιβληθούν με τμήμα της μεμβράνης του κυττάρου, που έχει τις ιικές πρωτεΐνες. Διαπιστώνεται ότι τα ζωικά κύτταρα δεν καταστρέφονται όπως τα βακτήρια κατά το λυτικό κύκλο των φάγων.

Αναπαραγωγικός κύκλος RNA ιού με φάκελο.



γημα οι ιοί μολύνουν τα επιθηλιακά κύτταρα της αναπνευστικής οδού χωρίς να δημιουργούν μόνιμη βλάβη, επειδή τα κύτταρα αυτά έχουν τη δυνατότητα αναπαραγωγής. Αντίθετα, ο ιός της πολιομυελίτιδας προσβάλλει τα νευρικά κύτταρα, τα οποία δεν έχουν την ικανότητα διαίρεσης. Επομένως, η βλάβη που προκαλεί ο ιός αυτός είναι μόνιμη.

Οι ιοί είναι το αίτιο δημιουργίας διάφορων μορφών καρκίνου

Σε αρκετές περιπτώσεις τόσο οι DNA ιοί όσο και οι ρετροϊοί προκαλούν καρκίνο στα ζώα και στον άνθρωπο. Για παράδειγμα, ο ιός της ηπατίτιδας Β είναι υπεύθυνος για την πρόκληση καρκίνου στο ήπαρ σε άτομα με χρόνιες μολύνσεις. Ο ιός Epstein-Barr, που προκαλεί τη μολυσματική μονοπυρήνωση, θεωρείται ύποπτος για αρκετούς καρκίνους που εμφανίζονται σε διάφορα μέρη της Αφρικής, όπως το λέμφωμα του Burkitt.

Ένας από τους ρετροϊούς ο HTLV-1 (Human T-lymphocytes Virus-1), προκαλεί λευχαιμία στα ενήλικα άτομα. Όλοι οι ογκογόνοι ιοί μετασχηματίζουν τα κανονικά κύτταρα σε καρκινικά μέσω της ενσωμάτωσής τους στο γονιδίωμα των κυττάρων.

Ιοί φυτών και ιοειδή

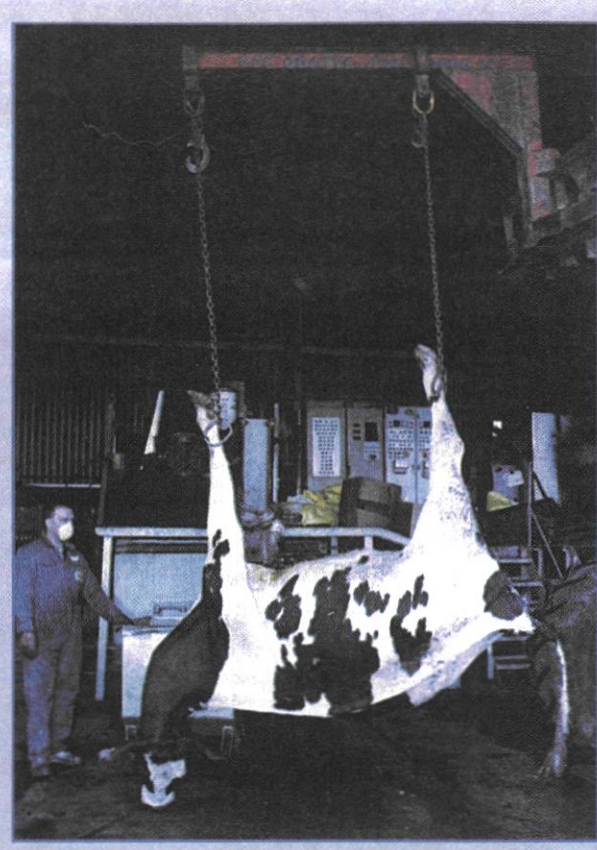
Οι περισσότεροι ιοί των φυτών είναι RNA ιοί και αποτελούν σημαντικό πρόβλημα στην ανάπτυξη και στην απόδοση των φυτών. Οι ιοί μεταδίδονται στα φυτά από έντομα μέσω πληγών στην επιδερμίδα ή από μολυσμένους σπόρους και μοσχεύματα.

Καταστροφικές ασθένειες προκαλούνται στα φυτά από πολύ μικρά κυκλικά μόρια γυμνού μονόκλωνου RNA, μήκους μερικών μόνο εκατοντάδων βάσεων που ονομάζονται **ιοειδή**. Πιστεύεται ότι τα ιοειδή απορρυθμίζουν τη λειτουργία των κυττάρων. Τα ιοειδή δεν έχουν γονίδια, άρα δεν παράγουν πρωτεΐνες και εξαρτώνται ολοκληρωτικά για τη διαιώνισή τους από τα ένζυμα του κυττάρου-ξενιστή. Φαίνεται ότι «αντιγράφονται» από την κυτταρική RNA πολυμεράση.

Μια ασθένεια που προκαλείται από ιοειδή κατέστρεψε περισσότερους από δέκα εκατομμύρια κοκκοφοίνικες στις Φιλιππίνες καθώς και την παραγωγή χρυσανθέμων στην Αμερική. Τα ιοειδή απειλούν επίσης καλλιέργειες ντομάτας και πατάτας.

Prions

Βρίσκονται στον αντίποδα των ιοειδών, γιατί είναι «μολυσματικά» σωματίδια που πιστεύεται ότι αποτελούνται μόνο από πρωτεΐνες. Είναι υπεύθυνα για ένα σύνολο ασθενειών, σε διάφορους οργανισμούς, που ονομάζονται σπογγώδεις εγκεφαλοπάθειες, όπως η ασθένεια των τρελών αγελάδων στα βοοειδή και το σύνδρομο Creutzfeldt-Jacobs στον άνθρωπο. Πιστεύεται ότι το prion όταν μπαίνει στα κύτταρα του εγκεφάλου, τροποποιεί τις πρωτεΐνες του ξενιστή. Αυτό προκαλεί την ασθένεια. Πιστεύεται ότι τα «prions» είναι μεταλλαγμένες μορφές μιας φυσιολογικής πρωτεΐνης του οργανισμού που βρίσκεται στον εγκέφαλο και άλλα όργανα, και της οποίας ο ρόλος δεν είναι γνωστός. Η μετάλλαξη που συμβαίνει τυχαία στο γονίδιο που την κωδικοποιεί, τροποποιεί την παραγόμενη πρωτεΐνη με τέτοιο τρόπο, ώστε να μην καταστρέφεται σε υψηλές θερμοκρασίες και να μην πέπτεται από πρωτεολυτικά ένζυμα. Η τροποποιημένη πρωτεΐνη καταλύει τη μετατροπή των φυσιολογικών πρωτεϊνών, αλλάζοντας τη δομή τους, σε μη φυσιολογικές. Η αυξημένη συγκέντρωση μη φυσιολογικών πρωτεϊνών προκαλεί βλάβη στα κύτταρα του εγκεφάλου. Όταν ένα ασθενές ζώο χρησιμοποιηθεί ως τροφή από άλλο ζώο, οι μη φυσιολογικές πρωτεΐνες του επάγουν την τροποποίηση των φυσιολογικών πρωτεϊνών του οργανισμού από τον οποίο καταναλώθηκε. Έτσι ο οργανισμός προσβάλλεται από την ασθένεια.



Περίληψη

Οι ιοί αποτελούνται από DNA ή RNA, που περιβάλλεται από ένα πρωτεϊνικό καψίδιο. Είναι ενδοκυτταρικά παράσιτα, αναπαράγονται μέσα σε κύτταρα-ξενιστές και χρησιμοποιούν τα ένζυμα των ξενιστών, για να αναπαραχθούν. Οι βακτηριοφάγοι είναι ιοί που μολύνουν μόνο βακτήρια και αναπαράγονται μέσω του λυτικού ή του λυσιγονικού κύκλου. Οι ιοί των ζώων διακρίνονται σε DNA και RNA ιούς, ανάλογα με το είδος του γενετικού υλικού τους, που περιβάλλεται από ένα πρωτεϊνικό καψίδιο και εξωτερικά από ένα μεμβρανώδη φάκελο. Στους ιούς που προσβάλλουν τα ζώα και τον άνθρωπο ανήκουν ο ιός της πολιομυελίτιδας, ο ιός της γρίπης, ο ιός της ηπατίτιδας, ο ιός του AIDS, καθώς και ιοί που προκαλούν καρκίνο. Οι περισσότεροι ιοί των φυτών είναι RNA ιοί και προσβάλλουν τα φυτά μέσω κυρίως των εντόμων. Τα ιοειδή είναι μικρά γυμνά μόρια RNA με μεγάλη μολυσματική ικανότητα.

Ερωτήσεις

1. Σε μερικούς ιούς το DNA είναι μονόκλωνο δηλαδή αποτελείται από μία μόνο πολυνουκλεοτιδική αλυσίδα. Ποια από τις παρακάτω προτάσεις, που αφορούν το DNA των ιών αυτών, είναι σωστή;

α. Η αναλογία βάσεων μεταξύ γουανίνης και κυτοσίνης πρέπει να είναι 1:1.

β. Οπωσδήποτε υπάρχει ίση αναλογία μεταξύ των τεσσάρων βάσεων.

γ. Δεν υπάρχει συγκεκριμένη αναλογία μεταξύ των τεσσάρων βάσεων.

Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

2. Να αναφέρετε τα γενικά χαρακτηριστικά των ιών.

3. Ποιος είναι ο κύκλος ζωής των βακτηριοφάγων;

4. Ένας ασθενής πάσχει από μια άγνωστη ασθένεια. Προκειμένου να εντοπιστεί το αίτιο, γίνεται απομόνωση προσβεβλημένων κυττάρων του ασθενούς τα οποία καλλιεργούνται. Από αυτά απομονώνεται DNA. Διαπιστώνεται ότι υπάρχουν δύο διαφορετικά είδη: το ένα είναι του ασθενούς και το άλλο ενός ιού. Ανάλυση της σύστασης των δύο DNA έδωσε τα παρακάτω αποτελέσματα:

Σωλήνας 1 (DNA 1): 22,1% A, 27,9% C, 27,9% G, 22,1% T

Σωλήνας 2 (DNA 2): 31,3% A, 31,3% C, 18,7% G, 18,7% T

Ποιος από τους δύο σωλήνες περιέχει το DNA του ιού και ποιος αυτό του ασθενή; Αιτιολογήστε την απάντησή σας.

5. Έχει βρεθεί ότι ορισμένοι ιοί ζώων έχουν κάποια δικά τους ένζυμα. Αυτό συμβαίνει επειδή:

α. οι ιοί καταστρέφονται γρήγορα από βλάβες στα κύτταρα-ξενιστές

β. τα κύτταρα-ξενιστές δεν έχουν ένζυμα που να καταλύουν τις πορείες RNA → RNA, RNA → DNA

γ. τα ένζυμα μεταφράζουν ιικό mRNA σε πρωτεΐνες

δ. οι ιοί χρησιμοποιούν αυτά τα ένζυμα για να εισέρχονται στις μεμβράνες των ζωικών κυττάρων.

Τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA

κεφάλαιο

4

Κατασκευή ανασυνδυασμένου DNA

4. Τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA

Από το 1953, που οι Watson και Crick πρότειναν το μοντέλο της τρισδιάστατης δομής του DNA, μέχρι σήμερα, η πρόοδος της επιστήμης της Βιολογίας ήταν αλματώδης. Η απομόνωση και χρήση πολυάριθμων ενζύμων, έδωσε στους ερευνητές τη δυνατότητα «αναπαραγωγής» των διαδικασιών της αντιγραφής, αντίστροφης μεταγραφής, μεταγραφής και μετάφρασης *in vitro*. Ειδικότερα η απομόνωση των περιοριστικών ενδονουκλεασών, ενζύμων που κόβουν το DNA σε κομμάτια με συγκεκριμένη αλληλουχία βάσεων, καθώς και ειδικών φορέων που μεταφέρουν DNA από κύτταρο σε κύτταρο, επέτρεψε την ανάπτυξη της **τεχνολογίας του ανασυνδυασμένου DNA** και έδωσε στον άνθρωπο την ικανότητα όχι μόνο να ερευνά, αλλά να επεμβαίνει και να τροποποιεί το γενετικό υλικό των οργανισμών. Η τεχνολογία αυτή βρίσκει εφαρμογή στην παραγωγή σειράς προϊόντων και τη δημιουργία φυτών και ζώων με «βελτιωμένες» ιδιότητες, όπως θα παρουσιαστεί σε επόμενα κεφάλαια. Με την ανάπτυξη της υψηλής αυτής τεχνολογίας, το γενετικό υλικό, το DNA, που ήταν τόσο δύσκολο να μελετηθεί, έγινε «παιχνίδι» στα ανθρώπινα χέρια.

Σήμερα μπορούμε να κατασκευάζουμε στο δοκιμαστικό σωλήνα ένα «ανασυνδυασμένο» μόριο DNA, δηλαδή ένα τεχνητό μόριο DNA, που περιέχει γονίδια από δύο ή και περισσότερους οργανισμούς. Το DNA αυτό μπορεί να μπει σε ένα βακτήριο ή σε ένα ευκαρυωτικό κύτταρο. Τα γενετικά τροποποιημένα βακτήρια ή ευκαρυωτικά κύτταρα είναι ικανά να ζουν και να αναπαράγονται μεταφέροντας στους απογόνους τους τις καινούργιες ιδιότητες.

Οι τεχνικές με τις οποίες ο άνθρωπος επεμβαίνει στο γενετικό υλικό, αποτελούν τη **Γενετική Μηχανική**. Η Γενετική Μηχανική άνοιξε το δρόμο για νέες, εξαιρετικά ενδιαφέρουσες ερευνητικές και παραγωγικές δυνατότητες, αλλά και για την επίτευξη δύο θεμελιωδών στόχων του ανθρώπου:

α. την κατανόηση των μυστηρίων της ζωής και της εξέλιξης πάνω στη Γη και,

β. τη βελτίωση της υγείας και του τρόπου διαβίωσής του. Η βελτίωση αυτή επιτυγχάνεται με τις εφαρμογές της Γενετικής Μηχανικής τόσο στην Ιατρική όσο και στη γεωργία και την κτηνοτροφία.

Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA περιλαμβάνει όλες τις τεχνικές που οδηγούν σε μεταφορά του γενετικού υλικού από τον ένα οργανισμό στον άλλο. Τα στάδια της διαδικασίας αυτής είναι (Εικόνα 4.1):

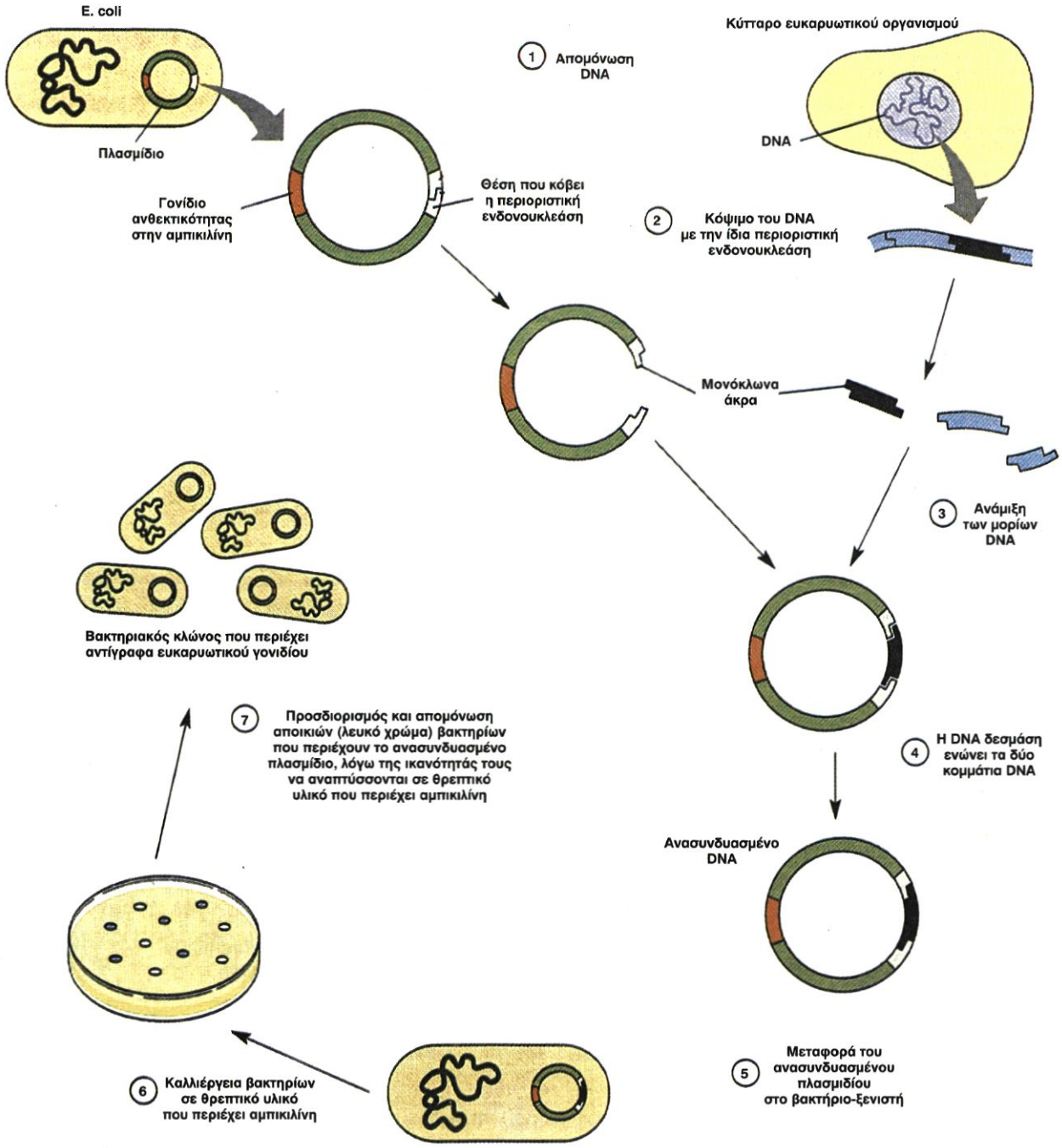
- **Η κατασκευή του ανασυνδυασμένου DNA**. Για το σκοπό αυτό το ολικό DNA από έναν οργανισμό δότη απομονώνεται, κόβεται ενζυματικά με ειδικά ένζυμα, τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες, και ενώνεται με ένα φορέα κλωνοποίησης. Ο **φορέας κλωνοποίησης** είναι ένα μόριο DNA, π.χ. πλασμίδιο ή DNA φάγων, το οποίο μπορεί να αυτοδιπλασιάζεται ανεξάρτητα μέσα σε ένα κύτταρο-ξενιστή όπως ένα βακτήριο. Το DNA που δημιουργείται είναι ανασυνδυασμένο.
- **Η μεταφορά του ανασυνδυασμένου μορίου DNA σε ένα κύτταρο-ξενιστή.** Η εισαγωγή του DNA σε βακτηριακό κύτταρο-ξενιστή ονομάζεται **μετασχηματισμός**.
- **Η επιλογή και απομόνωση των κυττάρων-ξενιστών.** Στο στάδιο αυτό τα κύτταρα-ξενιστές που έχουν προσλάβει το ανασυνδυασμένο DNA επιλέγονται από εκείνα που δεν το έχουν προσλάβει. Κάθε βακτήριο που προσλαμβάνει ένα μόνο μόριο ανασυνδυασμένου DNA πολλαπλασιάζεται και παράγει μια αποικία που αποτελεί ένα βακτηριακό κλώνο. Είναι φανερό ότι με την παραπάνω διαδικασία παράγονται χιλιάδες κλώνοι, που ο καθένας περιέχει ένα ανασυνδυασμένο μόριο DNA διαφορετικό από τους υπόλοιπους κλώνους.
- **Η επιλογή ενός βακτηριακού κλώνου που περιέχει το επιθυμητό τμήμα DNA.** Αυτή πραγματοποιείται με τη βοήθεια ειδικών μορίων ανιχνευτών, όπως θα αναλυθεί στη συνέχεια.

*Ο όρος **κλώνος** αναφέρεται σε μια ομάδα πανομοιότυπων μορίων, κυττάρων, ή οργανισμών. Ο όρος κλωνοποίηση αναφέρεται στην κατασκευή, κατά προτίμηση μεγάλου αριθμού, πανομοιότυπων μορίων, κυττάρων ή οργανισμών.*

Μία γονιδιωματική βιβλιοθήκη περιέχει όλο το γονιδίωμα ενός οργανισμού

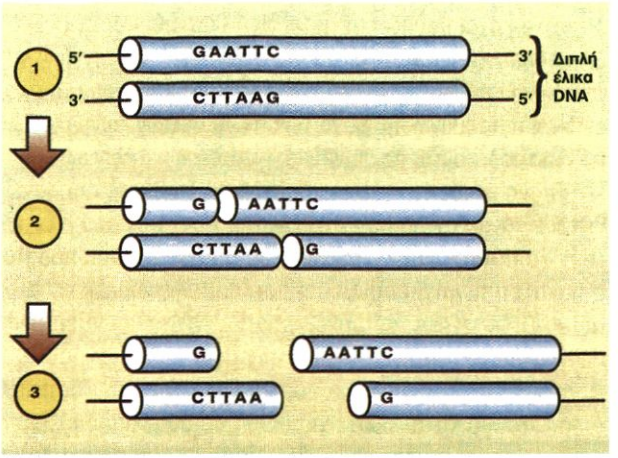
Η ανακάλυψη των περιοριστικών ενδονουκλεασών έθεσε το θεμέλιο για τη δημιουργία των γονιδιωματικών βιβλιοθηκών. Οι **περιοριστικές ενδονουκλεάσες** παράγονται από βακτήρια και ο φυσιολογικός τους ρόλος είναι να τα προστατεύουν από την εισβολή «ξένου» DNA. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες αναγνωρίζουν ειδικές αλληλουχίες 4-8 νουκλεοτιδίων στο δίκλωνο DNA. Μία από τις περιοριστικές ενδονουκλεάσες που χρησιμοποιείται ευρέως είναι η **EcoRI** που απομονώθηκε από το βακτήριο *Escherichia coli* (Εικόνα 4.2). Το ένζυμο αυτό όποτε συναντά την αλληλουχία: 5΄-G A A T T C-3΄

3΄-C T T A A G-5΄ στο γονιδίωμα, κόβει κάθε αλυσίδα μεταξύ του G και του A (με κατεύθυνση 5΄ → 3΄) αφήνοντας μονόκλωνα άκρα από αζευγάρωτες βάσεις στα κομμένα άκρα. Τα άκρα αυτά μπορούν να σχηματίσουν δεσμούς υδρογόνου με τις συμπληρωματικές βάσεις άλλων κομματιών DNA που έχουν κοπεί με το ίδιο



Εικόνα 4.1 Στάδια παραγωγής ανασυνδυασμένου μορίου DNA και κλωνοποίησή του.

ένζυμο. Η αλληλουχία GAATTC υπάρχει διάσπαρτη στα γονιδιώματα των οργανισμών. Έτσι το γονιδίωμα ενός ανώτερου ευκαρυωτικού οργανισμού μπορεί να κοπεί σε χιλιάδες κομμάτια με την περιοριστική αυτή ενδονουκλεάση. Στη συνέχεια τα κομμάτια αυτά ενσωματώνονται σε ειδικούς φορείς. Οι πιο χαρακτηριστικοί τύποι φορέων είναι τα πλασμίδια, και το DNA φάγων. Τα πλασμίδια που χρησιμοποιούνται ως φορείς κλωνοποίησης έχουν τη συγκεκριμένη αλληλουχία μία μόνο φορά. Έτσι τα πλασμίδια κόβονται από την EcoRI σε αυτή τη θέση και δημιουργείται ένα γραμμικό μόριο DNA με μονόκλωνα άκρα. Τα δύο είδη DNA, του πλασμιδίου και του οργανισμού, αναμιγνύονται και, επειδή έχουν συμπληρωματικά άκρα, ενώνονται μεταξύ τους με τη μεσολάβηση ενός ενζύμου, της DNA δεσμάσης. Όπως θυμάστε η DNA δεσμάση φυσιολογικά είναι ένα από τα ένζυμα της αντιγραφής που συνδέει κομμάτια



Εικόνα 4.2 Η περιοριστική ενδονουκλεάση EcoRI αναγνωριζει την αλληλουχία GAATTC στη δίκλωνη αλυσίδα του DNA και την κόβει.

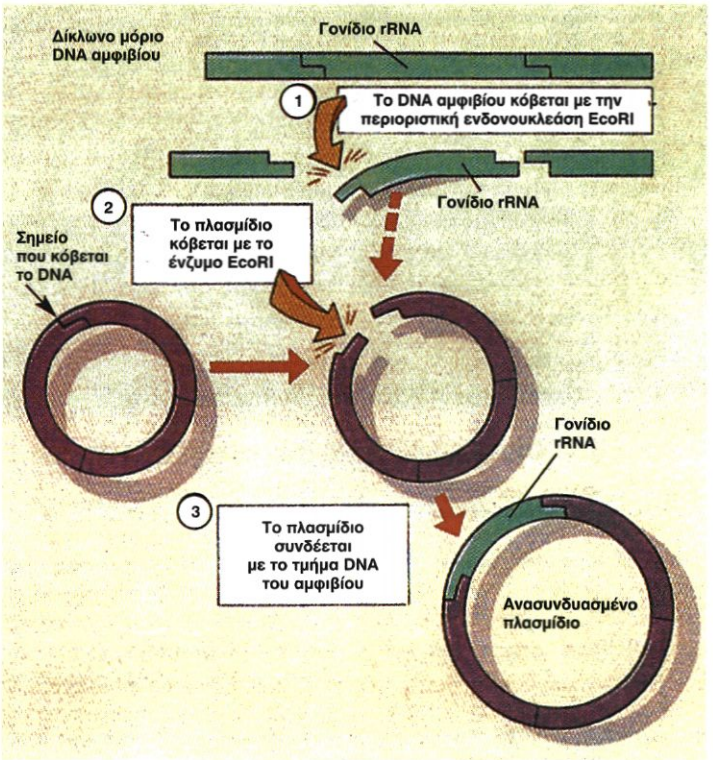
του DNA. Έτσι δημιουργούνται ανασυνδυασμένα πλασμίδια (Εικόνα 4.3). Μερικά πλασμίδια ξαναγίνονται κυκλικά, χωρίς να προσλάβουν DNA του οργανισμού.

Βακτήρια - ξενιστές δέχονται σε μικρό ποσοστό πλασμίδια, μερικά από τα οποία είναι ανασυνδυασμένα. Συνήθως χρησιμοποιούνται ως ξενιστές, βακτήρια που δεν έχουν πλασμίδια και επομένως είναι ευαίσθητα σε αντιβιοτικά (βλ. σελ. 18). Για να μπει ένα πλασμίδιο μέσα στο βακτήριο, τα τοιχώματα του βακτηρίου γίνονται παροδικά διαπερατά σε μακρομόρια, μετά από κατάλληλη κατεργασία (μετασχηματισμός).

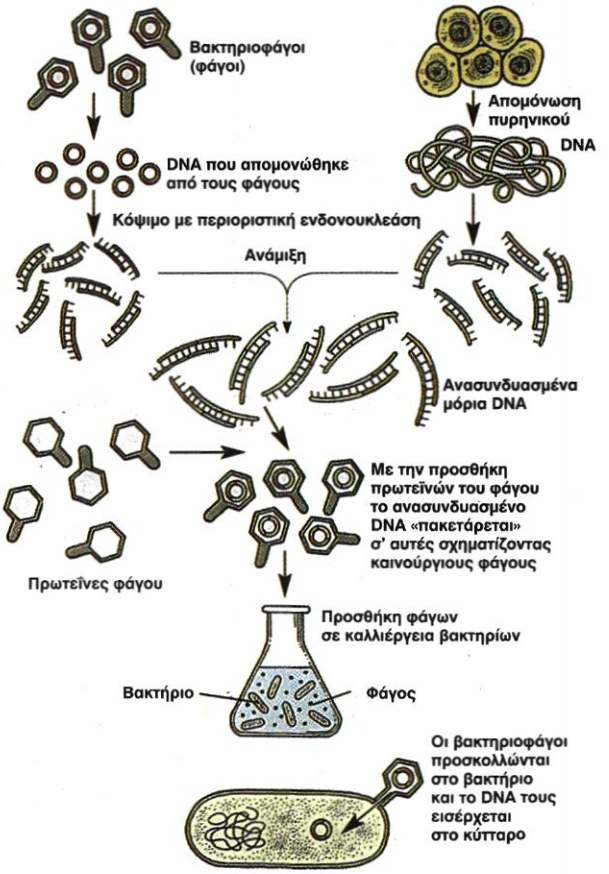
Η επιλογή των βακτηρίων που δέχτηκαν ανασυνδυασμένο πλασμίδιο στηρίζεται στην ικανότητα ανάπτυξής τους παρουσία αντιβιοτικού, επειδή το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο περιέχει ένα γονίδιο που τους προσδίδει ανθεκτικότητα στο συγκεκριμένο αντιβιοτικό. Κάθε βακτήριο που προσέλαβε ένα ανασυνδυασμένο πλασμίδιο πολλαπλασιάζεται και δίνει ένα κλώνο. Η διαδικασία δημιουργίας κλώνων βακτηρίων ονομάζεται **κλωνοποίηση**. Το σύνολο των βακτηριακών κλώνων περιέχει το συνολικό DNA του οργανισμού δότη και αποτελεί μία **γονιδιωματική βιβλιοθήκη** (Εικόνα 4.1). Για να γίνει επιλογή ενός κλώνου που έχει ένα επιθυμητό γονίδιο χρησιμοποιούνται ειδικοί **ανιχνευτές**, με μια διαδικασία που θα αναλυθεί παρακάτω.

Η κλωνοποίηση σε πλασμίδια είναι σχετικά απλή και γι' αυτό τα πλασμίδια αποτελούν το συνηθέστερο φορέα κλωνοποίησης για οργανισμούς με μικρό γονιδίωμα. Ένας άλλος φορέας που χρησιμοποιείται ευρύτατα γιατί

Εικόνα 4.3 Κατασκευή ανασυνδυασμένου μορίου DNA.
1. Το DNA ενός οργανισμού κόβεται με μια περιοριστική ενδονουκλεάση 2. Το πλασμίδιο-φορέας κόβεται με το ίδιο ένζυμο 3. Τα δύο είδη DNA συνδέονται μεταξύ τους.



Εικόνα 4.4 Κατασκευή γονιδιωματικής βιβλιοθήκης.

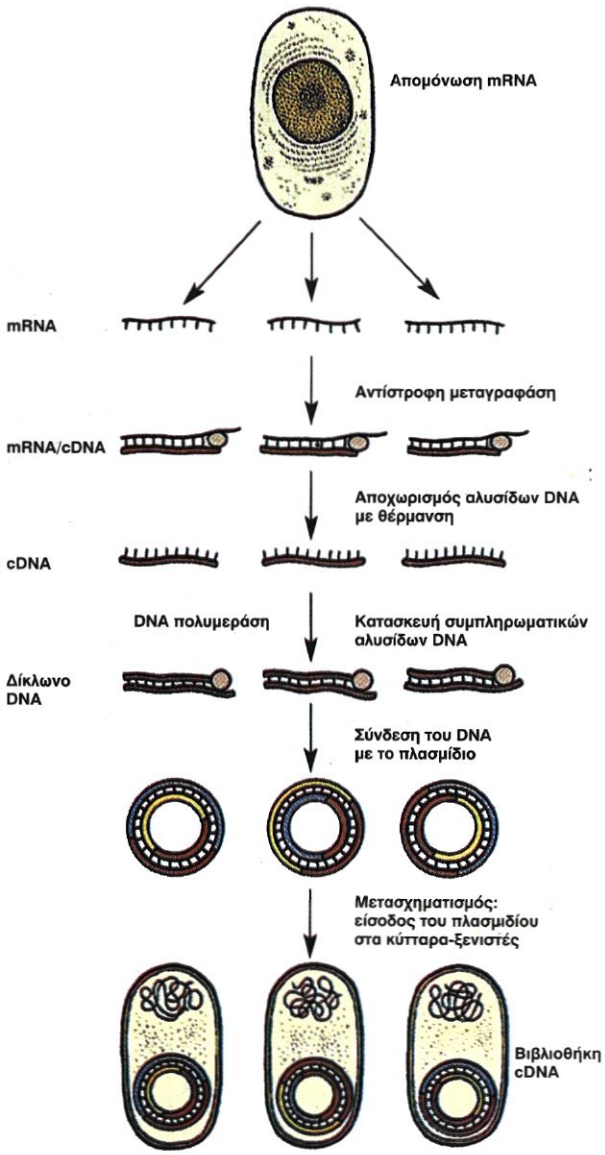


μπορεί να ενσωματώσει μεγαλύτερα κομμάτια ξένου DNA, είναι ο βακτηριοφάγος λ. Η στρατηγική της κλωνοποίησης είναι η ίδια με αυτήν που χρησιμοποιείται και στα πλασμίδια. (Εικόνα 4.4).

Κλωνοποίηση του mRNA: Κατασκευή cDNA βιβλιοθήκης

Στους ανώτερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς πολλά γονίδια μεταγράφονται σε ορισμένους μόνο κυτταρικούς τύπους, όπως για παράδειγμα τα γονίδια των αλυσίδων των αιμοσφαιρινών που εκφράζονται μόνο στα πρόδρομα ερυθροκύτταρα του ανθρώπου. Αν θέλουμε να κλωνοποιήσουμε μόνο τα γονίδια που εκφράζονται σε συγκεκριμένα κύτταρα, τότε κατασκευάζουμε τις cDNA βιβλιοθήκες. Οι cDNA βιβλιοθήκες περιέχουν αντίγραφα των mRNA όλων των γονιδίων που εκφράζονται στα κύτταρα αυτά και έχουν το πλεονέκτημα απομόνωσης μόνο των αλληλουχιών των γονιδίων που μεταφράζονται σε αμινοξέα, δηλαδή των εξωνίων.

Εικόνα 4.5 Κατασκευή cDNA βιβλιοθήκης.



Για να κατασκευαστεί μία **cDNA βιβλιοθήκη**, απομονώνεται το ολικό «ώριμο» mRNA από κύτταρα που εκφράζουν το συγκεκριμένο γονίδιο. Το mRNA χρησιμοποιείται σαν καλούπι για τη σύνθεση μιας συμπληρωματικής αλυσίδας DNA (cDNA: complementary DNA). Η σύνθεση του cDNA γίνεται από το ένζυμο αντίστροφη μεταγραφάση. Παράγονται έτσι υβριδικά μόρια cDNA-mRNA. Το mRNA διασπάται με κατάλληλες χημικές ουσίες ή αποδιατάσσεται με θέρμανση και τα cDNA χρησιμεύουν σαν καλούπι για τη σύνθεση μιας συμπληρωματικής αλυσίδας DNA. Το αποτέλεσμα είναι η δημιουργία δίκλωνων μορίων DNA. Τα δίκλωνα μόρια DNA εισάγονται σε πλασμίδια ή βακτηριοφάγους και κλωνοποιούνται με τη διαδικασία που αναφέρθηκε προηγουμένως. Με αυτό τον τρόπο δίνουν τη δυνατότητα σύνθεσης της πρωτεΐνης ενός συγκεκριμένου γονιδίου στο κύτταρο-ξενιστή. (Εικόνα 4.5).

Η υβριδοποίηση των νουκλεϊκών οξέων χρησιμοποιείται για την ανίχνευση κλώνων γονιδιωματικής ή cDNA βιβλιοθήκης

Η απομόνωση του συνολικού DNA από κύτταρα ενός προκαρυωτικού ή ευκαρυωτικού οργανισμού στο δοκιμαστικό σωλήνα είναι υπόθεση ρουτίνας. Αν επιδράσουμε στο DNA που απομονώθηκε με κατάλληλες χημικές ουσίες ή αυξήσουμε τη θερμοκρασία τότε σπάζουν οι δεσμοί υδρογόνου μεταξύ των δύο συμπληρωματικών αλυσίδων και οι δύο αλυσίδες αποχωρίζονται η μία από την άλλη. Η διαδικασία αυτή λέγεται **αποδιάταξη**. Οι δύο μονόκλωνες συμπληρωματικές αλυσίδες σε κατάλληλες συνθήκες μπορούν να επανασυνδεθούν. Στην ιδιότητα αυτή στηρίζεται η διαδικασία της υβριδοποίησης που είναι η σύνδεση μονόκλωνων συμπληρωματικών αλυσίδων DNA ή συμπληρωματικών DNA-RNA. Η **υβριδοποίηση** είναι μια πολύ σημαντική ιδιότητα του DNA που μας δίνει τη δυνατότητα αν έχουμε ένα γνωστό μόριο DNA, να το χρησιμοποιήσουμε ως ανιχνευτή για τον εντοπισμό του συμπληρωματικού του όταν το τελευταίο βρίσκεται μαζί με χιλιάδες άλλα κομμάτια.

Μια γονιδιωματική βιβλιοθήκη περιέχει έναν τεράστιο αριθμό από κλωνοποιημένα κομμάτια χρωμοσωμικού DNA, τα οποία έχουν παραχθεί με δράση κάποιας περιοριστικής ενδονουκλεάσης. Ορισμένα από τα κομμάτια αυτά περιέχουν ολόκληρα γονίδια, άλλα περιέχουν κομμάτια γονιδίων και άλλα τμήματα DNA που δεν κωδικοποιούν πρω-

τεΐνες. Έτσι πρέπει μέσα από όλα αυτά τα κομμάτια να εντοπίσουμε αυτό που θέλουμε να μελετήσουμε. Η τεχνική που χρησιμοποιείται συνήθως περιλαμβάνει τη χρήση ιχνηθετημένων ανιχνευτών μορίων DNA ή RNA που περιέχουν αλληλουχίες συμπληρωματικές προς το κλωνοποιημένο DNA. Οι ανιχνευτές αναμειγνύονται με το DNA της βιβλιοθήκης (το οποίο έχει αποδιαταχθεί) και υβριδοποιούν μόνο το συμπληρωματικό τους DNA.

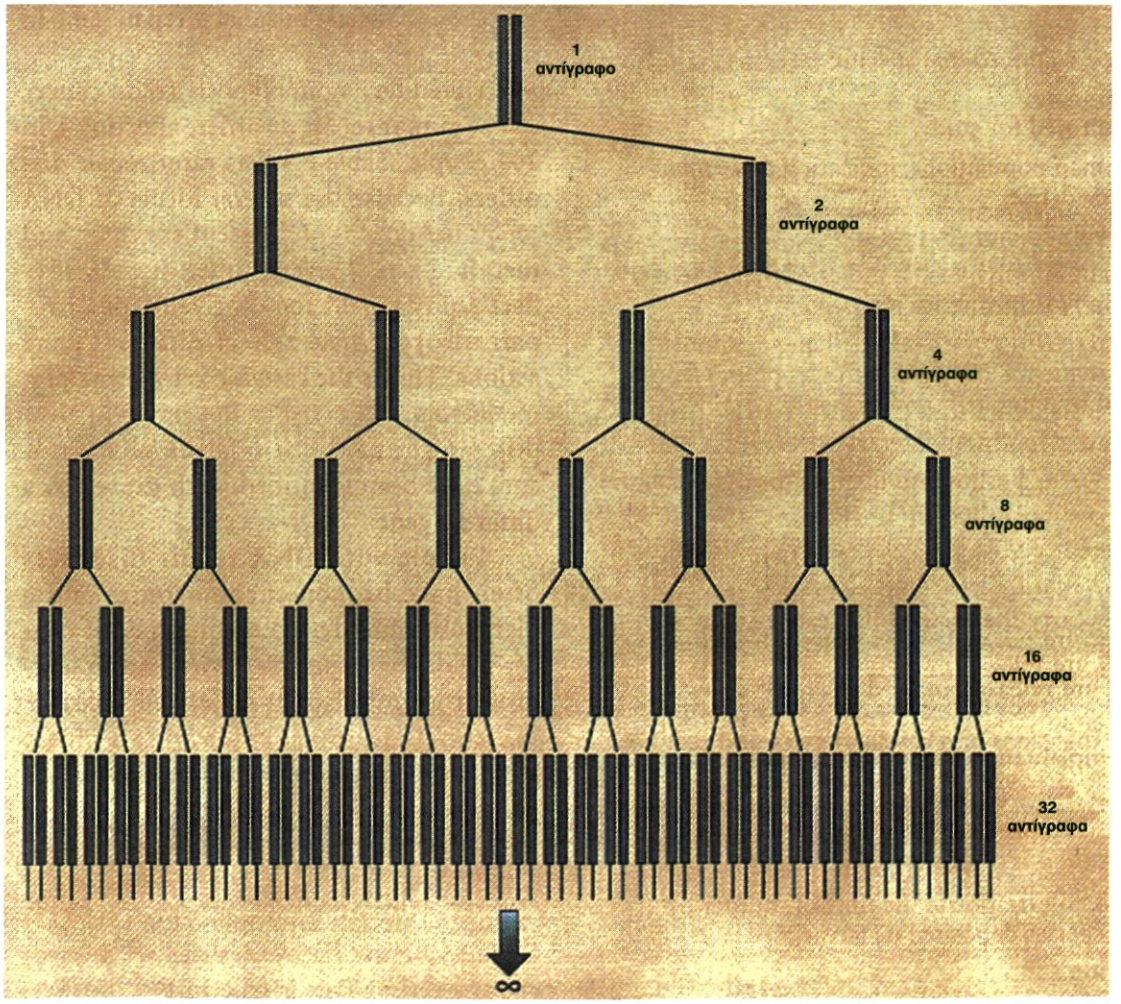
Η διαδικασία της υβριδοποίησης ακολουθείται και για την απομόνωση ενός συγκεκριμένου γονιδίου από μια cDNA βιβλιοθήκη.

Η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) επιτρέπει τον επιλεκτικό πολλαπλασιασμό αλληλουχιών DNA

Η κατασκευή βιβλιοθηκών μας δίνει τη δυνατότητα να απομονώσουμε το βακτηριακό κλώνο που περιέχει το επιθυμητό γονίδιο. Στη συνέχεια πολλαπλασιάζονται τα βακτήρια του κλώνου και δημιουργούνται πολλά αντίγραφα του γονιδίου που περιέχει. Η δημιουργία πολλών αντιγράφων είναι απαραίτητη προϋπόθεση τόσο για τη μελέτη του συγκεκριμένου γονιδίου όσο και για την παραγωγή της πρωτεΐνης που αυτό κωδικοποιεί.

Η μέθοδος αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR: Polymerase Chain Reaction) μας επιτρέπει να αντιγράψουμε επιλεκτικά, εκατομμύρια φορές, ειδικές αλληλουχίες DNA από ένα σύνθετο μείγμα μορίων DNA, χωρίς τη μεσολάβηση ζωντανού κυττάρου (Εικόνα 4.6). Η τεχνική αυτή που άρχισε να εφαρμόζεται ευρέως από το 1985, έχει αυξήσει την ευαισθησία των γενετικών αναλύσεων και έχει πολλές πρακτικές εφαρμογές. Για παράδειγμα χρησιμοποιείται στην Ιατρική για τη διάγνωση ασθενειών όπως του AIDS, στην εγκληματολογία για τη διαλεύκανση υποθέσεων και στη μελέτη DNA από απολιθώματα.

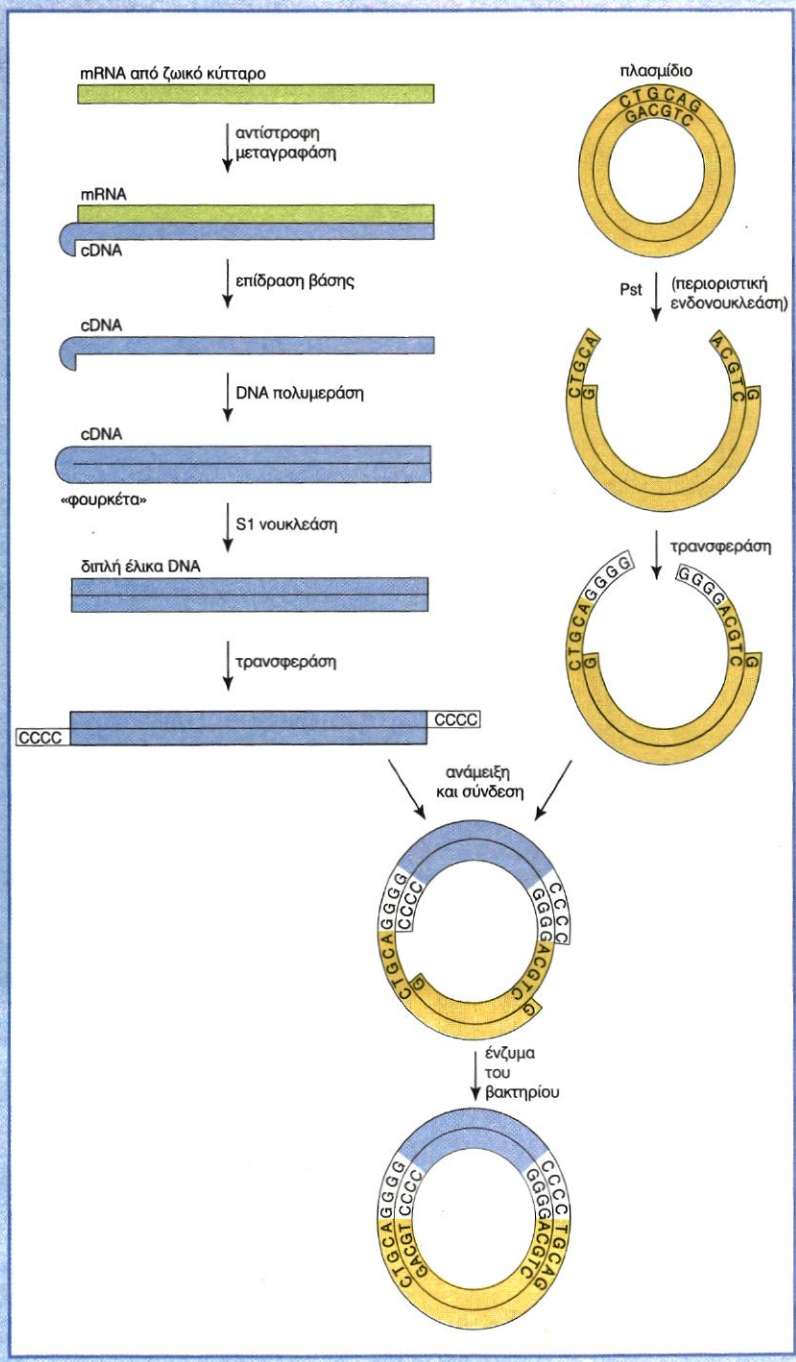
Εικόνα 4.6 Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR).



Χρήσιμες πρωτεΐνες από ανασυνδυασμένα βακτήρια

Η κατασκευή του cDNA δίνει τη δυνατότητα σύνθεσης της πρωτεΐνης ενός συγκεκριμένου γονιδίου, που ανήκει σε ευκαρυωτικό οργανισμό, μέσα σε βακτήρια.

Οι ερευνητές Walter Gilbert και Lydia Villa-Komaroff κατόρθωσαν να συνθέσουν προϊνσουλίνη ποντικού με την παρακάτω διαδικασία: Αρχικά χρησιμοποιείται το ένζυμο αντίστροφη μεταγραφάση για να μεταφέρει τη γενετική πληροφορία για τη σύνθεση της πρωτεΐνης, από το mRNA που έχει απομονωθεί από κύτταρα ποντικού, σε ένα μονόκλωνο cDNA. Το «καλούπι» mRNA στη συνέχεια καταστρέφεται (με την επίδραση βάσης) και, με τη βοήθεια του ενζύμου DNA πολυμεράση, συντίθεται ένας συμπληρωματικός κλώνος DNA, ο οποίος είναι συνέχεια του πρώτου. Ένα τρίτο ένζυμο, η S1 νουκλεάση, διασπά τη «φουρκέτα» που ενώνει τους δύο συμπληρωματικούς κλώνους δημιουργώντας ένα δίκλωνο μόριο.



Στο επόμενο βήμα το δίκλωνο «ξένο» DNA ενώνεται με ένα πλασμίδιο ως εξής: Μια τρανσφεράση επιμηκύνει τα 3' άκρα του προσθέτοντας μια μικρή αλληλουχία όμοιων νουκλεοτιδίων (στην περίπτωση αυτή 4 νουκλεοτίδια κυτοσίνης). Ομοίως επιμηκύνονται τα κομμένα 3' άκρα του DNA του πλασμιδίου, με την προσθήκη μιας αλληλουχίας συμπληρωματικών νουκλεοτιδίων (4 νουκλεοτίδια γουανίνης). Οι συμπληρωματικές βάσεις των μονόκλωνων άκρων σχηματίζουν δεσμούς υδρογόνου και τα δύο μόρια DNA ενώνονται. Τέλος, ένζυμα του βακτηρίου συμπληρώνουν τα κενά ενσωματώνοντας πλήρως το «ξένο» DNA μέσα στο DNA του πλασμιδίου, το οποίο με τη σειρά του χρησιμεύει σαν φορέας εισαγωγής του DNA αυτού μέσα σε βακτήριο-ξενιστή.

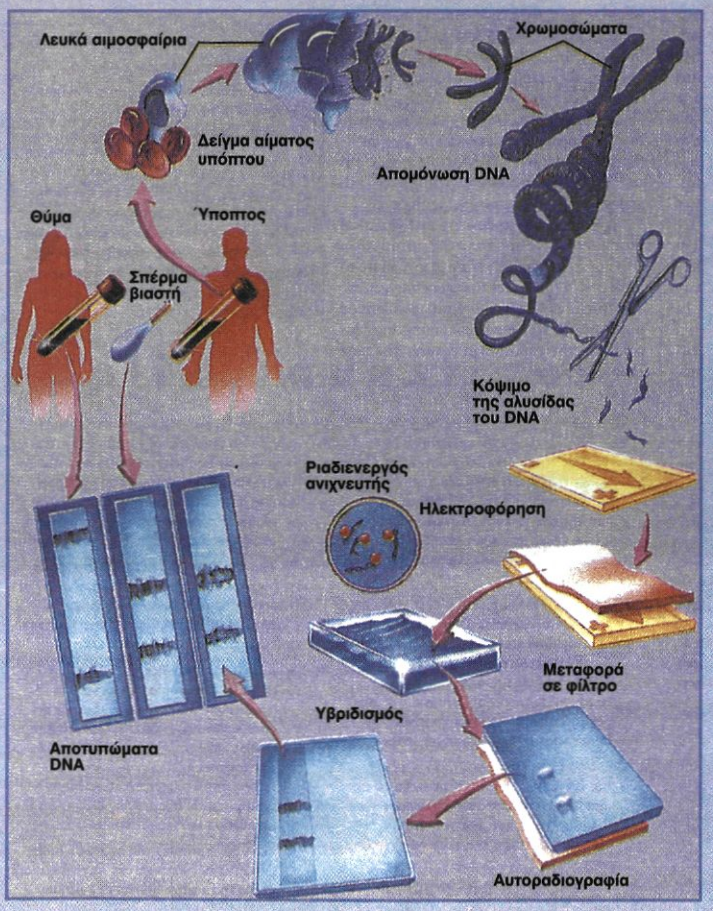
Το συγκεκριμένο πλασμίδιο που χρησιμοποιήθηκε από τους Walter Gilbert και Lydia Villa-Komaroff προσδιορίζεται ως pBR322 και περιέχει δύο γονίδια ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά (την πενικιλίνη και την τετρακυκλίνη). Το πλασμίδιο κόβεται με την περιοριστική ενδονουκλεάση Pst σε μια αλληλουχία αναγνώρισης που βρίσκεται στη μέση του γονιδίου που κωδικοποιεί την πενικιλινάση (ένζυμο που διασπά την πενικιλίνη). Η ενσωμάτωση του «ξένου» DNA καταστρέφει την ενζυμική δράση της πενικιλινάσης, ενώ η ανθεκτικότητα στην τετρακυκλίνη παραμένει και χρησιμοποιείται για να επιλεγούν τα βακτήρια που έχουν δεχθεί το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο.

Αποτυπώματα DNA (DNA fingerprinting)

Μια επαναστατική μέθοδος που ονομάζεται μέθοδος αποτυπωμάτων DNA στηρίζεται στο γεγονός ότι δεν υπάρχουν άτομα, με εξαίρεση τους μονοζυγωτικούς διδύμους, που να έχουν το ίδιο ακριβώς DNA. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για τη διαλεύκανση εγκλημάτων και την αναγνώριση της ταυτότητας ατόμων. Σύμφωνα με αυτή το DNA ενός ατόμου, π.χ. του υπόπτου, συγκρίνεται με το DNA που απομονώνεται από βιολογικό υλικό, όπως εκριζωμένες τρίχες, ή κηλίδα σπέρματος, το οποίο βρέθηκε στο χώρο του εγκλήματος. Τα αποτελέσματα της σύγκρισης του DNA μας δίνουν τη δυνατότητα να συμπεράνουμε αν τα δύο δείγματα προέρχονται από το ίδιο άτομο ή όχι.

Πατέρας της μεθόδου αυτής είναι ο Άλεκ Τζέφρις, ο οποίος ανακάλυψε έναν τρόπο εντοπισμού ορισμένων περιοχών του DNA, που παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλομορφία στον ανθρώπινο πληθυσμό. Η πρώτη εφαρμογή της μεθόδου έγινε στη Μεγάλη Βρετανία. Στις 21 Νοεμβρίου 1985, η 15χρονη Λίντα Μαν βρέθηκε δολοφονημένη μετά από βιασμό σε ένα ερημικό δρόμο στο Λεϊσεστερσάιρ. Στις 31 Ιουλίου 1986 σε γειτονικό χωριό βρέθηκε επίσης δολοφονημένη μετά από βιασμό η 15χρονη Ντον Άσγουορθ. Η τοπική Αστυνομία αποφάσισε να υποβάλει σε ανάλυση DNA, από δείγμα αίματος, όλους τους άρρενες κατοίκους τριών χωριών της περιοχής, ηλικίας 13-30 χρονών. Πεντέμισι χιλιάδες άτομα πέρασαν από το τεστ προκειμένου να συγκριθεί το DNA τους με το DNA του βιαστή που απομονώθηκε από τα ίχνη σπέρματος στα θύματά του. Στα τέλη Σεπτεμβρίου και ενώ οι αναλύσεις δεν είχαν ακόμη τελειώσει, ο 27χρονος Κόλιν Πίτσφορκ, διέφυγε από τη δειγματοληψία αίματος. Το γεγονός αυτό έγινε γνωστό και η Αστυνομία υπέβαλε σε υποχρεωτική εξέταση τον Κ. Πίτσφορκ και έστειλε δείγμα αίματός του για ανάλυση DNA. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το DNA του υπόπτου ήταν το ίδιο με το DNA που απομονώθηκε από τα θύματα. Ο δράστης παραπέμφθηκε στη δικαιοσύνη και του επιβλήθηκε ποινή κάθειρξης είκοσι ετών. Τα λόγια που είπε ο δικαστής ήταν ότι, χωρίς τα αποτελέσματα της ανάλυσης DNA, ο δράστης ίσως να κυκλοφορούσε ακόμη ελεύθερος.

Η μέθοδος ανάλυσης αποτυπωμάτων DNA χρησιμοποιείται επίσης και για την εξακρίβωση ταυτότητας πτωμάτων σε περιπτώσεις που αυτά είναι παραμορφωμένα από σεισμούς, πυρκαγιές, αεροπορικά δυστυχήματα κτλ. Χρήση της μεθόδου αυτής γίνεται επίσης στις περιπτώσεις όπου αμφισβητείται η πατρότητα ενός παιδιού. Στην περίπτωση αυτή DNA που απομονώνεται από το αίμα του παιδιού, συγκρίνεται με το DNA από το αίμα του υπό αμφισβήτηση πατέρα και με το DNA της μητέρας. Το γεγονός ότι το γενετικό αποτύπωμα του παιδιού είναι αποτέλεσμα συνδυασμού του γενετικού αποτυπώματος της μητέρας και αυτό του πατέρα, μας επιτρέπει την ταυτοποίηση του πατέρα.



Στην Ελλάδα η εξέταση του DNA γίνεται από το 1994 και ως σήμερα έχουν διερευνηθεί πάνω από 650 περιπτώσεις. Πολλές από αυτές αφορούν πολύκροτες υποθέσεις που έχουν δει τα φώτα της δημοσιότητας όπως αυτή της διπλής δολοφονίας του επιχειρηματία Γ. Νικολαΐδη και της φίλης του Σ. Καλαθάκη, καθώς και την αναγνώριση της ταυτότητας των δύο θυμάτων που είχαν βρεθεί σε κατάσταση αποσύνθεσης στη θέση Κρόνιζα Λεονταρίου στη Βοιωτία. Τα δύο πτώματα, όπως διαπιστώθηκε, ήταν του δραπέτη των φυλακών της Κέρκυρας Μ. Αδαμαντίδη και της φίλης του Α. Βλαχοστεργίου.

Τα στάδια που ακολουθεί η μέθοδος αποτυπωμάτων DNA, είναι τα εξής:

- Απομόνωση του DNA από τον ύποπτο και από το βιολογικό υλικό.
- Πολλαπλασιασμός πολυμορφικών περιοχών του μορίου DNA με τη μέθοδο PCR.
- Διαχωρισμός με ηλεκτροφόρηση των συγκεκριμένων περιοχών (βλ. ένθετο).
- Ανάλυση αποτελεσμάτων.

Περίληψη

Η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA έχει ως στόχο την απομόνωση και τον πολλαπλασιασμό ειδικών αλληλουχιών DNA μετά από ενσωμάτωσή τους σε μόρια φορείς. Τα ανασυνδυασμένα μόρια που προκύπτουν εισάγονται σε βακτήρια *E. coli* και πολλαπλασιάζονται.

Οι γονιδιωματικές βιβλιοθήκες κατασκευάζονται μετά από κόψιμο του ολικού DNA ενός οργανισμού με περιοριστικές ενδονουκλεάσες, ενσωμάτωση των κομματιών σε μόρια φορείς όπως πλασμίδια ή φάγους, και εισαγωγή τους, μετά από μετασχηματισμό, σε βακτήρια *E. coli*. Κάθε βακτήριο περιέχει ένα μόνο τμήμα DNA και δίνει γένεση σε έναν κλώνο. Η διαδικασία ονομάζεται κλωνοποίηση. Κάθε γονιδιωματική βιβλιοθήκη αποτελείται από χιλιάδες κλώνους που αντιπροσωπεύουν όλο το γονιδίωμα του οργανισμού. Ένα συγκεκριμένο τμήμα DNA ή γονίδιο επιλέγεται με τη βοήθεια DNA ανιχνευτών.

Οι cDNA βιβλιοθήκες κατασκευάζονται από mRNA που απομονώνεται από διαφοροποιημένα ευκαρυωτικά κύτταρα. Αρχικά από το mRNA παράγεται δίκλωνο DNA, μέσω του ενζύμου αντίστροφη μεταγραφάση, το οποίο ενσωματώνεται σε μόρια φορείς και στη συνέχεια εισάγεται σε βακτήρια. Από τις cDNA βιβλιοθήκες μπορεί να επιλεγεί ένα γονίδιο που αποτελείται μόνο από τις περιοχές που κωδικοποιούν αμινοξέα. Το γονίδιο, μετά από κάποιες τροποποιήσεις, μπορεί να παράγει μια πρωτεΐνη σε μεγάλη ποσότητα. Με την αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) ένα τμήμα DNA πολλαπλασιάζεται μέσα σε δοκιμαστικό σωλήνα απουσία κυττάρων.

Ερωτήσεις

1. Γιατί οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες και οι φορείς κλωνοποίησης είναι απαραίτητα εργαλεία για τη Γενετική Μηχανική;

2. Τι είναι μια γονιδιωματική βιβλιοθήκη:
α. ένας κλώνος βακτηρίων που περιέχει ένα τμήμα DNA ενός οργανισμού
β. μια συλλογή βιβλίων για κλώνους
γ. ένα σύνολο από κλώνους βακτηρίων που ο καθένας έχει ένα πλασμίδιο με διαφορετικό τμήμα DNA ενός οργανισμού
δ. ένα σύνολο από περιοριστικές ενδονουκλεάσες που χρησιμοποιούνται για να παράγουν διαφορετικούς κλώνους
ε. τίποτε από τα παραπάνω.
Ποια είναι η σωστή απάντηση;

3. Θα μπορούσε να αναπτυχθεί η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA αν ο γενετικός κώδικας δεν ήταν καθολικός; Αιτιολογείστε την απάντηση σας.

4. Εξηγείστε με σχήματα το πώς παράγεται το cDNA και το πώς χρησιμοποιείται στην τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA.

5. Συμπληρώστε με τις κατάλληλες λέξεις τα κενά στο κείμενο:
Το DNA κόβεται με .... σε κομμάτια με γνωστά άκρα. Τα κομμάτια συνδέονται με ένα .... που έχει συμπληρωματικά άκρα, με τη βοήθεια ενός ενζύμου που λέγεται ....
Το cDNA μπορεί να κατασκευαστεί από το ..... με τη βοήθεια ενζύμου που ονομάζεται .... και να συνδεθεί με ένα .... Το ανασυνδυασμένο μόριο εισάγεται κατόπιν σε .....

6. Ποια κύτταρα θα χρησιμοποιούσατε για να κατασκευάσετε μία cDNA βιβλιοθήκη, εάν θα θέλατε να συνθέσετε με τη μέθοδο αυτή:
α. Ινσουλίνη
β. Αιμοσφαιρίνη
γ. Αντισώματα
δ. Μυοσίνη.

7. Για ποιο λόγο, κατά την ενσωμάτωση DNA ευκαρυωτικού οργανισμού σε πλασμίδιο, χρησιμοποιείται η ίδια περιοριστική ενδονουκλεάση για να κόψει το πλασμίδιο και το DNA του οργανισμού;

8. Ποιος είναι ο ρόλος των παρακάτω στις τεχνικές Γενετικής Μηχανικής;
α. Περιοριστικές ενδονουκλεάσες
β. Πλασμίδια
γ. Βακτήρια.

9. Οι περιοριστικές ενδονουκλεάσες:
α. παράγονται φυσιολογικά από ευκαρυωτικά κύτταρα
β. κόβουν μονόκλωνα μόρια DNA
γ. κόβουν το DNA σε πολύ εξειδικευμένες θέσεις
δ. εισάγονται στα βακτήρια από τους βακτηριοφάγους.
Ποια από τις προτάσεις αυτές είναι σωστή;

10. Ποια από τις παρακάτω προτάσεις που αφορούν την DNA δεσμάση είναι λανθασμένη;
α. είναι ένζυμο
β. είναι φυσιολογικό συστατικό των κυττάρων
γ. μπορεί να ενώνει κομμάτια στο ανασυνδυασμένο DNA
δ. παίρνει μέρος στην αντιγραφή του DNA
ε. ενώνει πολυπεπτίδια.

11. Τι είναι ή σε τι χρησιμοποιείται η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR);
α. Είναι μέθοδος εύρεσης της ακολουθίας βάσεων του DNA.
β. Χρησιμοποιείται για να ανιχνεύει ένα ειδικό τμήμα DNA.
γ. Χρησιμοποιείται για να παράγει μεγάλες ποσότητες ενός ειδικού τμήματος DNA.
δ. Χρησιμοποιείται για τη χαρτογράφηση γονιδίων.

12. Σε πείραμα Γενετικής Μηχανικής χρησιμοποιείται πλασμίδιο το οποίο έχει δύο γονίδια ανθεκτικότητας σε αντίστοιχα αντιβιοτικά: το ένα γονίδιο προσδίδει ανθεκτικότητα σε αμπικιλίνη και το άλλο σε στρεπτομυκίνη. Στο πλασμίδιο αυτό εισάγεται τμήμα DNA μέσα στο γονίδιο ανθεκτικότητας της αμπικιλίνης. Στη συνέχεια με το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο μετασχηματίζονται κύτταρα *Escherichia coli* που δεν είναι ανθεκτικά σε κανένα από τα δύο αντιβιοτικά. Αναλύστε τον τρόπο με τον οποίο μπορούν να επιλεγούν τα βακτήρια που περιέχουν το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο.

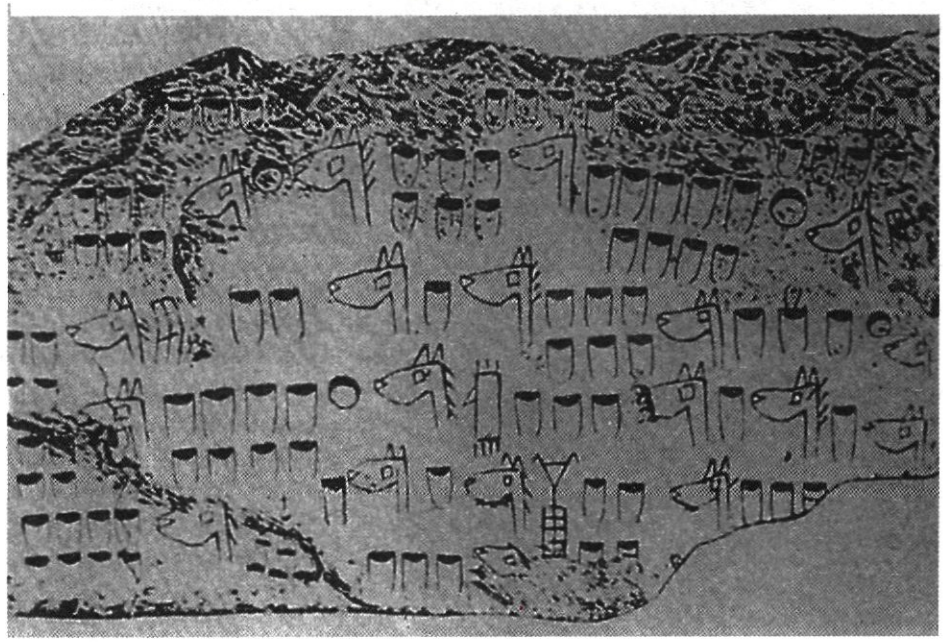
Εργασίες - Δραστηριότητες

Κάνετε ένα κατάλογο των φαινομένων και τεχνικών που συζητούνται στο κεφάλαιο αυτό και εξαρτώνται από τη συμπληρωματικότητα των βάσεων.

Ταξίδι στο χρόνο

1972 Δημιουργείται το πρώτο ανασυνδυασμένο μόριο DNA σε εργαστηριακές συνθήκες (*in vitro*).
1974 Επιτυγχάνεται η κλωνοποίηση ευκαρυωτικών γονιδίων σε βακτηριακά πλασμίδια.
1977 Επιτυγχάνεται η ανάπτυξη τεχνικών προσδιορισμού της αλληλουχίας βάσων του DNA.
1981 Επιτυγχάνεται η παραγωγή διαγονιδιακών ποντικών και μυγών.
1982 Παράγεται ανθρώπινη ινσουλίνη με χρήση τεχνικών της Γενετικής Μηχανικής και παίρνει άδεια χρήσης για διαβητικούς. «Απελευθερώνεται» στο φυσικό περιβάλλον το πρώτο γενετικά τροποποιημένο φυτό, ο καπνός.
1987 Αναπτύσσεται η μέθοδος της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR: Polymerase Chain Reaction) που χρησιμοποιείται στον πολλαπλασιασμό συγκεκριμένων αλληλουχιών DNA.

Μενδελική κληρονομικότητα



Τοιχογραφία με χαρακτηριστικά αλόγων (4.000 π.Χ.)

κεφάλαιο

5

5. Μενδελική κληρονομικότητα

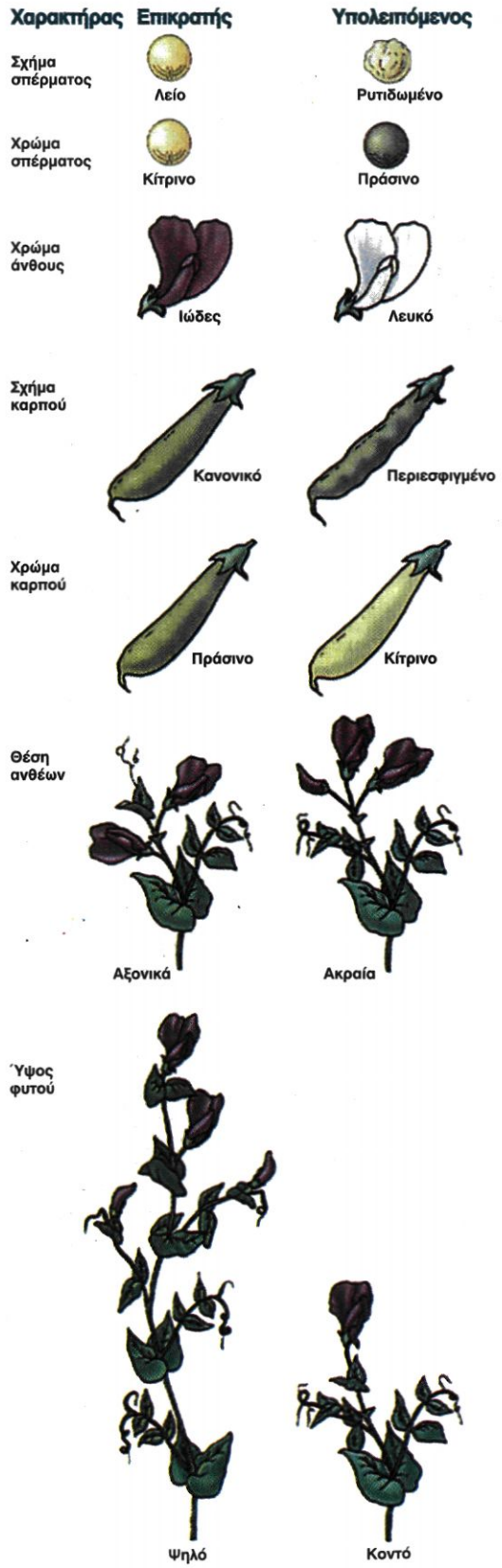
Το ενδιαφέρον για την κληρονομικότητα είναι πολύ παλιό, σχεδόν όσο και η ύπαρξη του ανθρώπινου είδους. Υπάρχουν πολλές μαρτυρίες σχετικά με τον προβληματισμό που δημιουργήθηκε στους ανθρώπους για θέματα κληρονομικότητας, οι οποίες χρονολογούνται τουλάχιστον πριν από 6.000 χρόνια. Η πρώτη όμως επιστημονική μελέτη της κληρονομικότητας έγινε το 19ο αιώνα από τον Αυστριακό μοναχό Gregor Mendel, που δικαίως θεωρείται ο πατέρας της Γενετικής.

Ο Mendel διάλεξε για τα πειράματά του ένα φυτό, το μοσχομπίζελο (*Pisum sativum),* το οποίο καλλιεργούσε στον κήπο του μοναστηριού όπου ζούσε, στο Brno, πόλη της σημερινής Τσεχίας. Η επιτυχία των πειραμάτων του Mendel στηρίχτηκε στα παρακάτω:

- Μελέτησε μία ή δύο ξεχωριστές ιδιότητες του φυτού κάθε φορά και όχι το σύνολο των ιδιοτήτων που το χαρακτηρίζει. Διάλεξε, για παράδειγμα, το χρώμα των ανθέων ή το ύψος του φυτού και όχι όλα τα γνωρίσματά του.
- Χρησιμοποίησε για τα πειράματά του **αμιγή (καθαρά) στελέχη** για τη συγκεκριμένη ιδιότητα που μελετούσε, δηλαδή στελέχη τα οποία μετά την αυτογονιμοποίηση θα παρουσίαζαν για πολλές γενιές την ίδια ιδιότητα (π.χ. ψηλό φυτό, ιώδες άνθος).
- Ανέλυσε τα αποτελέσματά του στατιστικά, δηλαδή μετρούσε τους απογόνους των ατόμων τα οποία είχαν μια συγκεκριμένη ιδιότητα και στη συνέχεια υπολόγιζε τις συχνότητες εμφάνισής τους.

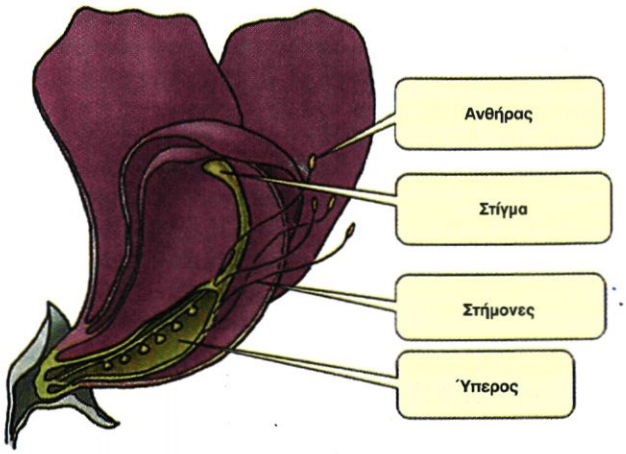
Άλλο σημαντικό στοιχείο που τον βοήθησε στην έρευνά του ήταν ότι επέλεξε με μεγάλη προσοχή το φυτό που χρησιμοποίησε. Το μοσχομπίζελο έχει πολλά πλεονεκτήματα. Αναπτύσσεται πολύ εύκολα και εμφανίζει μεγάλη ποικιλότητα σε πολλούς χαρακτήρες του όπως στο ύψος, όπου εμφανίζονται ψηλά και κοντά φυτά, στο χρώμα του άνθους, όπου υπάρχουν ιώδη και λευκά άνθη, στο χρώμα και στο σχήμα του σπέρματος καθώς και σε άλλες ιδιότητες (Εικόνα 5.1). Είναι απαραίτητο ο οργανισμός ο οποίος χρησιμοποιείται για τη μελέτη των μηχανισμών της κληρονομικότητας να εμφανίζει ποικιλότητα σε κάποιους χαρακτήρες. Δεν μπορούμε, για παράδειγμα, να μελετήσουμε την κληρονομικότητα του χρώματος των μαλλιών σε έναν πληθυσμό στον οποίο όλα τα άτομα έχουν ξανθά μαλλιά.

Το μοσχομπίζελο επίσης παρέχει τη δυνατότητα τεχνητής γονιμοποίησης, πέρα από την αυτογονιμοποίηση, η οποία συμβαίνει φυσιολογικά. Σ' αυτήν, η γύρη από τους στήμονες ενός άνθους πέφτει στον ύπερο του ίδιου άνθους, ενώ στην τεχνητή γονιμοποίηση η γύρη από τους στήμονες ενός άνθους μπορεί να μεταφερθεί με ειδικό

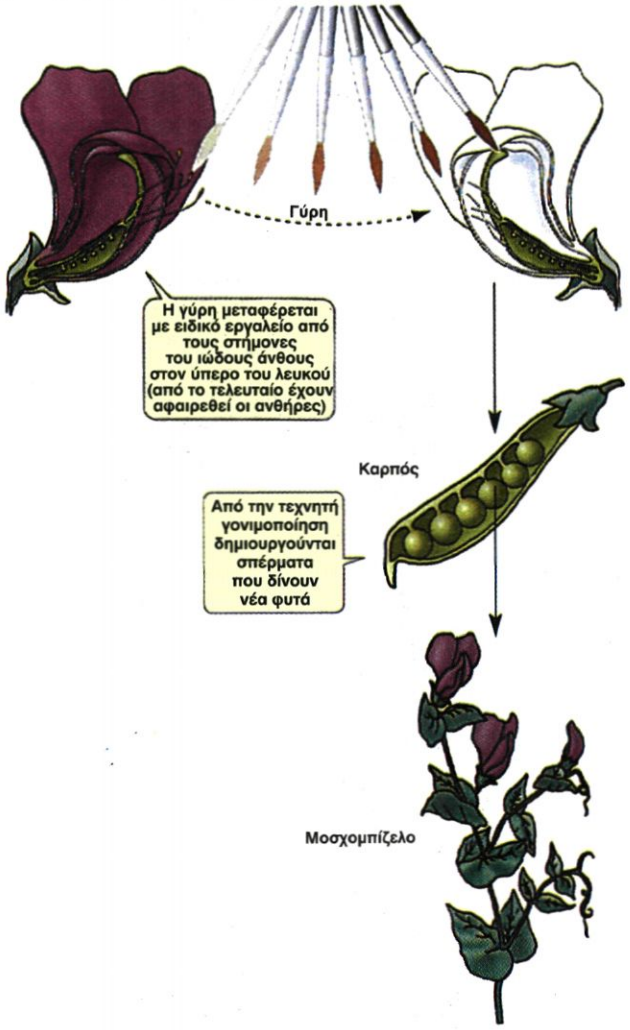


Εικόνα 5.1 Οι χαρακτήρες που μελέτησε ο Mendel στο φυτό *Pisum Sativum* (μοσχομπίζελο).

α. Ανατομία άνθους



β. Τεχνητή γονιμοποίηση



Εικόνα 5.2 α. Ανατομία του άνθους του μοσχομπίζελου β. Τεχνητή γονιμοποίηση στο μοσχομπίζελο.

εργαλείο στον ύπερο του επιθυμητού άνθους (Εικόνα 5.2). Επιπλέον, το μοσχομπίζελο δίνει μεγάλο αριθμό απογόνων και παρέχει τη δυνατότητα στατιστικής επεξεργασίας των αποτελεσμάτων.

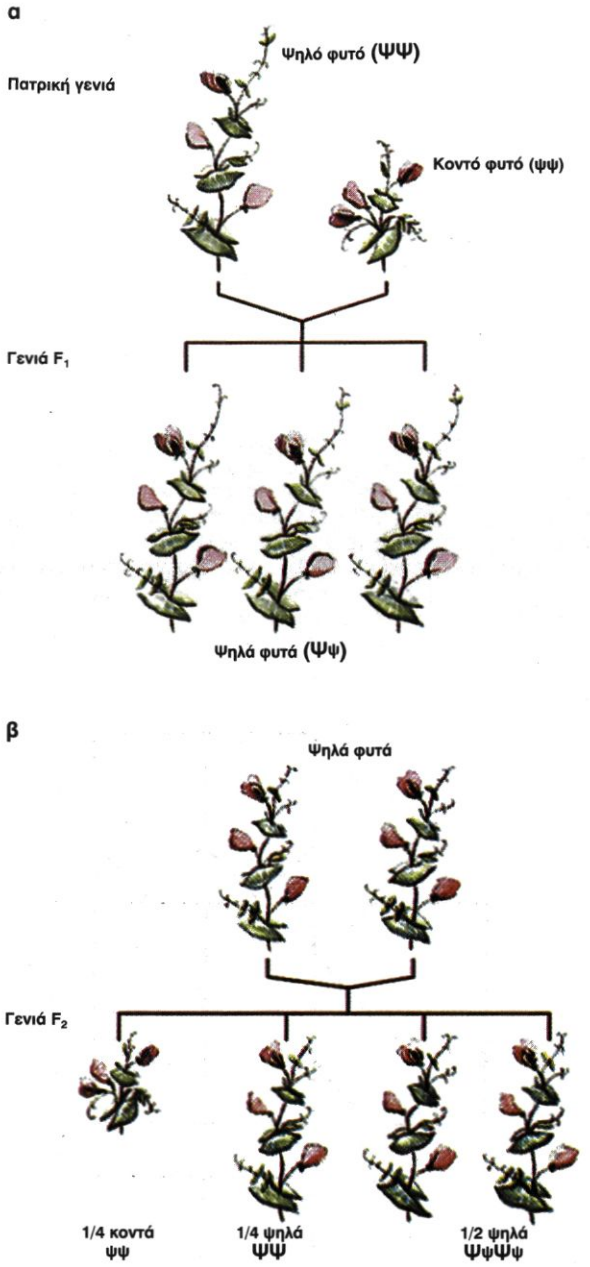
Αρχικά ο Mendel δημιούργησε αμιγή στελέχη για τη συγκεκριμένη ιδιότητα που μελετούσε. Αφού απέκτησε τέτοια στελέχη, στη συνέχεια έκανε τεχνητή γονιμοποίηση μεταξύ δύο αμιγών φυτών, που διέφεραν ως προς την ιδιότητα αυτή. Τα φυτά αυτά αποτελούσαν την πατρική γενιά (P). Οι απόγονοί τους ήταν η πρώτη θυγατρική γενιά, που ήταν άτομα υβριδικά (γενιά F_1), δηλαδή ήταν απόγονοι αμιγών γονέων που είχαν διαφορετική έκφραση του ίδιου χαρακτήρα, όπως ψηλό και κοντό φυτό. Τα άτομα αυτά τα άφηνε να αυτογονιμοποιηθούν και έπαιρνε τους απογόνους τους, που αποτελούσαν τη δεύτερη θυγατρική γενιά (γενιά F_2). Από τα αποτελέσματα των πειραμάτων του ο Mendel διατύπωσε τους νόμους της κληρονομικότητας: το **νόμο του διαχωρισμού των αλληλόμορφων γονιδίων** και το **νόμο της ανεξάρτητης μεταβίβασης των γονιδίων**.

Ο πρώτος νόμος περιγράφει τον τρόπο κληρονόμησης ενός γονιδίου - Νόμος διαχωρισμού των αλληλόμορφων γονιδίων

Όταν ο Mendel διασταύρωσε αμιγή κοντά φυτά με αμιγή ψηλά φυτά, διαπίστωσε ότι όλα τα φυτά της F_1 ήταν ψηλά. Όταν τα φυτά της F_1 διασταυρώθηκαν μεταξύ τους, προέκυψαν φυτά ψηλά και κοντά σε συγκεκριμένη και ίδια πάντα αναλογία. Επειδή ο κληρονομικός παράγοντας που καθορίζει το χαμηλό ύψος ξαναεμφανίζεται στην F_2 γενιά, συμπέρανε ότι δε θα πρέπει να έχει «χαθεί» από την F_1 (Εικόνα 5.3).

Από αυτά τα αποτελέσματα ο Mendel πρότεινε ότι κάθε κληρονομικός χαρακτήρας, όπως το ύψος, ελέγχεται από δύο παράγοντες, που υπάρχουν σε κάθε άτομο. Σήμερα γνωρίζουμε ότι οι «κληρονομικοί παράγοντες» του Mendel είναι τα γονίδια. Οι διαφορετικές μορφές του ίδιου χαρακτήρα ελέγχονται από **αλληλόμορφα γονίδια**, δηλαδή γονίδια που βρίσκονται στην ίδια θέση στα ομόλογα χρωμοσώματα και ελέγχουν την ίδια ιδιότητα, όπως χαμηλό ή ψηλό ύψος φυτού.

Ένα άτομο με ίδια αλληλόμορφα γονίδια για μια συγκεκριμένη ιδιότητα είναι **ομόζυγο** για την ιδιότητα αυτή, ενώ ένα άτομο με δύο διαφορετικά αλληλόμορφα γονίδια είναι **ετερόζυγο**. Ο Mendel παρατήρησε ότι σε μερικά ετερόζυγα άτομα το ένα αλληλόμορφο μπορεί να καλύπτει την έκφραση του άλλου. Αυτό που καλύπτει ονομάζεται **επικρατές** και αυτό που καλύπτεται **υπολειπόμενο**. Κατά τη διασταύρωση ψηλών με κοντά φυτά το αλληλόμορφο για το ψηλό είναι επικρατές στο αλληλόμορφο για το κοντό. Συνήθως το επικρατές συμβολίζεται με κεφαλαίο γράμμα



Εικόνα 5.3 Διασταύρωση μονοϋβριδισμού. Ο Mendel διασταύρωσε ψηλά και κοντά φυτά α. Στην F_1 όλα τα φυτά ήταν ψηλά β. Διασταύρωση των φυτών της F_1 μεταξύ τους, έδωσε ψηλούς και κοντούς απογόνους σε αναλογία 3:1.

και το υπολειπόμενο με μικρό. Κατά κανόνα για το συμβολισμό χρησιμοποιείται το πρώτο γράμμα του επικρατούς χαρακτήρα. Ένα άτομο που έχει δύο ίδια επικρατή αλληλόμορφα είναι ομόζυγο για το επικρατές γονίδιο και συμβολίζεται με δύο κεφαλαία γράμματα, όπως ΨΨ για τα ψηλά φυτά. Ένα άτομο που έχει δύο ίδια υπολειπόμενα αλληλόμορφα είναι ομόζυγο για το υπολειπόμενο γονίδιο και συμβολίζεται με δύο μικρά γράμματα, όπως ψψ για τα κοντά φυτά. Μια άλλη περίπτωση είναι το άτομο να έχει ένα επικρατές και ένα υπολειπόμενο αλληλόμορφο, δηλαδή να είναι ετερόζυγο, όπως Ψψ, που αντιστοιχεί στα ψηλά φυτά της F_1 γενιάς. Η εμφάνιση ενός ατόμου δεν αποκαλύπτει πάντοτε τα αλληλόμορφά του. Τα ΨΨ και Ψψ φυτά είναι ψηλά, αλλά το πρώτο είναι ομόζυγο και το δεύτερο ετερόζυγο. Ο **γονότυπος** αναφέρεται στο σύνολο των αλληλόμορφων γονιδίων ενός οργανισμού, ενώ ο **φαινότυπος** αφορά το σύνολο των χαρακτήρων οι οποίοι αποτελούν την έκφραση του γονότυπου ενός οργανισμού, όπως είναι η εξωτερική εμφάνιση και η βιοχημική σύσταση.

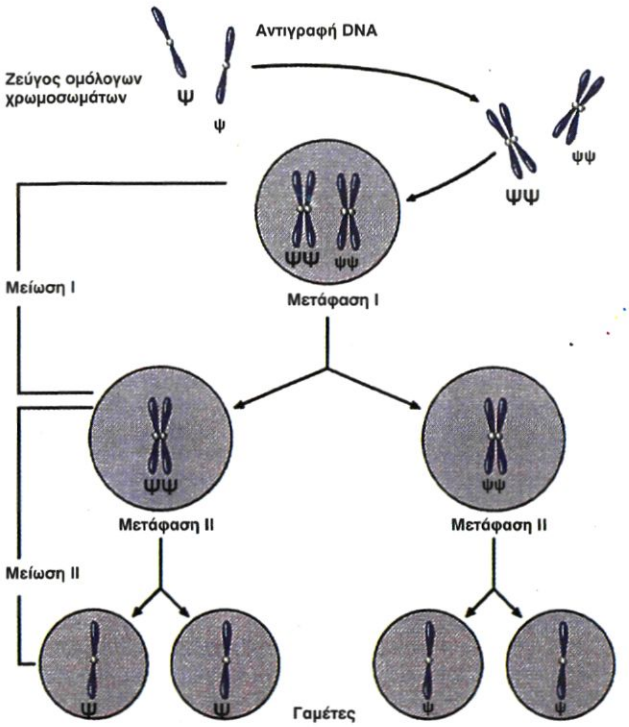
Ο τρόπος με τον οποίο κληρονομούνται οι χαρακτήρες τους οποίους μελέτησε ο Mendel είναι αποτέλεσμα των γεγονότων που συμβαίνουν στη μείωση. Κατά την παραγωγή των γαμετών διαχωρίζονται τα δύο ομόλογα χρωμοσώματα και συνεπώς και τα δύο αλληλόμορφα γονίδια (Εικόνα 5.4). Σε ένα φυτό γονότυπου Ψψ, για παράδειγμα, σχηματίζονται δύο ειδών γαμέτες, Ψ και ψ, σε ίση αναλογία. Οι απόγονοι προκύπτουν από τον τυχαίο συνδυασμό των γαμετών. Η κατανομή των αλληλόμορφων στους γαμέτες και ο τυχαίος συνδυασμός τους αποτελεί τον **πρώτο νόμο του Mendel** ή **νόμο του διαχωρισμού των αλληλόμορφων γονιδίων**.

Νόμοι του Mendel και μείωση

Ο Mendel διασταύρωσε κοντά (ψψ) με ψηλά (ΨΨ), φυτά. Τα φυτά της F_1 είχαν όλα τον ίδιο φαινότυπο, ψηλό, με γονό-

Πολλοί από τους κληρονομικούς χαρακτήρες ελέγχονται από περισσότερα από ένα ζεύγη γονιδίων

Ο Mendel μελέτησε γενετικούς χαρακτήρες που καθορίζονται από ένα ζευγάρι αλληλομόρφων γονιδίων. Πολλοί όμως χαρακτήρες του ανθρώπου, όπως το ύψος και το χρώμα του δέρματος εμφανίζουν μια συνεχή διακύμανση ανάμεσα στα διάφορα άτομα ενός πληθυσμού. Καθένας από αυτούς τους χαρακτήρες καθορίζεται από λίγα έως πολλά διαφορετικά γονίδια. Γι' αυτές τις περιπτώσεις χρησιμοποιείται ο όρος **πολυγονιδιακή** κληρονομικότητα. Αφορά λοιπόν περιπτώσεις όπου ανεξάρτητα ζεύγη γονιδίων έχουν παρόμοια και προσθετικά αποτελέσματα πάνω στον ίδιο κληρονομικό χαρακτήρα. Σε πολλές περιπτώσεις στη δημιουργία του φαινότυπου επιδρά και το περιβάλλον. Η συνεχής έκθεση στον ήλιο μεταβάλλει το χρώμα του δέρματος και η ελλιπής διατροφή μπορεί να επιδράσει αρνητικά στο ύψος.

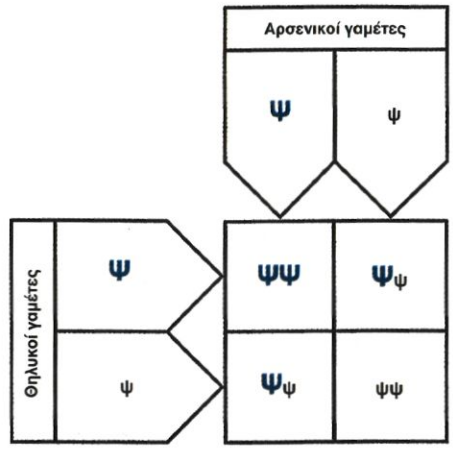


Εικόνα 5.4 Ο νόμος του διαχωρισμού των αλληλομόρφων γονιδίων. Κατά τη μείωση διαχωρίζονται τα ομόλογα χρωμοσώματα και τα γονίδια που βρίσκονται σ' αυτά και σχηματίζονται οι γαμέτες. Στη γονιμοποίηση γίνεται ελεύθερος συνδυασμός των αλληλομόρφων γονιδίων.

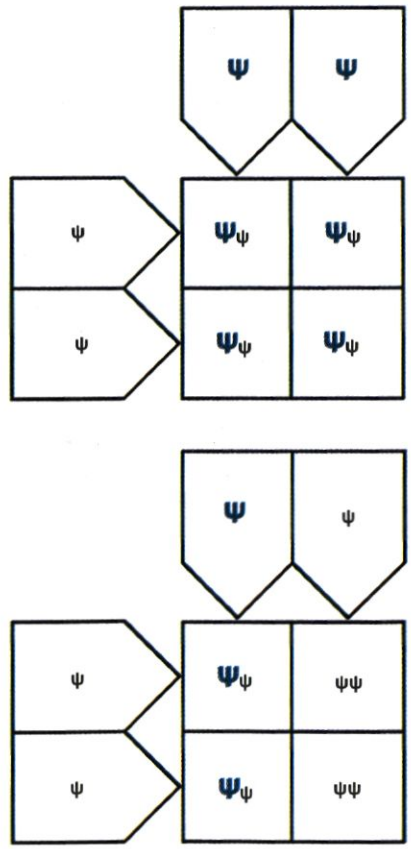
τυπο Ψψ (ετερόζυγα). Βγαίνει λοιπόν το συμπέρασμα ότι όλα τα άτομα της F_1 γενιάς είναι φαινοτυπικά όμοια.

Στη συνέχεια διασταύρωσε τα φυτά της F_1 μεταξύ τους. Από τη διασταύρωση προκύπτουν άτομα ΨΨ, Ψψ και ψψ. Ένα άτομο ΨΨ προκύπτει, όταν ένας γαμέτης που περιέχει το αλληλόμορφο Ψ γονιμοποιήσει ένα γαμέτη που περιέχει επίσης το αλληλόμορφο Ψ. Ένα ψψ φυτό προκύπτει, όταν ένας ψ γαμέτης γονιμοποιήσει έναν ψ γαμέτη, και ένα Ψψ άτομο προκύπτει από συνδυασμό ενός Ψ με έναν ψ γαμέτη. Επειδή οι δύο από τους τέσσερις δυνατούς συνδυασμούς γαμετών παράγουν ένα ετερόζυγο άτομο, ενώ οι υπόλοιποι συνδυασμοί δίνουν ένα ομόζυγο επικρατές και ένα ομόζυγο υπολειπόμενο, η γονοτυπική αναλογία από μια διασταύρωση μονοϋβριδισμού δύο ατόμων της F_1 είναι 1ΨΨ : 2Ψψ : 1ψψ. Η αντίστοιχη φαινοτυπική αναλογία είναι 3 ψηλά προς 1 κοντό φυτό, δηλαδή 3:1. Αυτές οι αναλογίες υπολογίζονται εύκολα με τη δημιουργία του **τετράγωνου του Punnett** (Εικόνα 5.5). Οι διασταυρώσεις αυτού του τύπου, όπου μελετάται ο τρόπος κληρονόμησης ενός χαρακτήρα, ονομάζονται **διασταυρώσεις μονοϋβριδισμού**.

Ο Mendel, προκειμένου να εξακριβώσει αν ένα ψηλό φυτό είχε γονότυπο ΨΨ (ομόζυγο) ή Ψψ (ετερόζυγο),



Εικόνα 5.5 Τετράγωνο του Punnett. Αποτελεί διάγραμμα των γαμετών και του τρόπου συνδυασμού τους σε μια διασταύρωση. Σε κάθε τμήμα του τετραγώνου βρίσκονται οι γονότυποι των ατόμων που προκύπτουν. Το συγκεκριμένο τετράγωνο του Punnet αναφέρεται σε μια διασταύρωση μονοϋβριδισμού μεταξύ δύο ψηλών φυτών με γονότυπο Ψψ.



Εικόνα 5.6 Διασταυρώσεις ελέγχου για τον προσδιορισμό άγνωστου γονότυπου. Η διασταύρωση γίνεται με άτομο ομόζυγο για το υπολειπόμενο αλληλόμορφο γονίδιο.

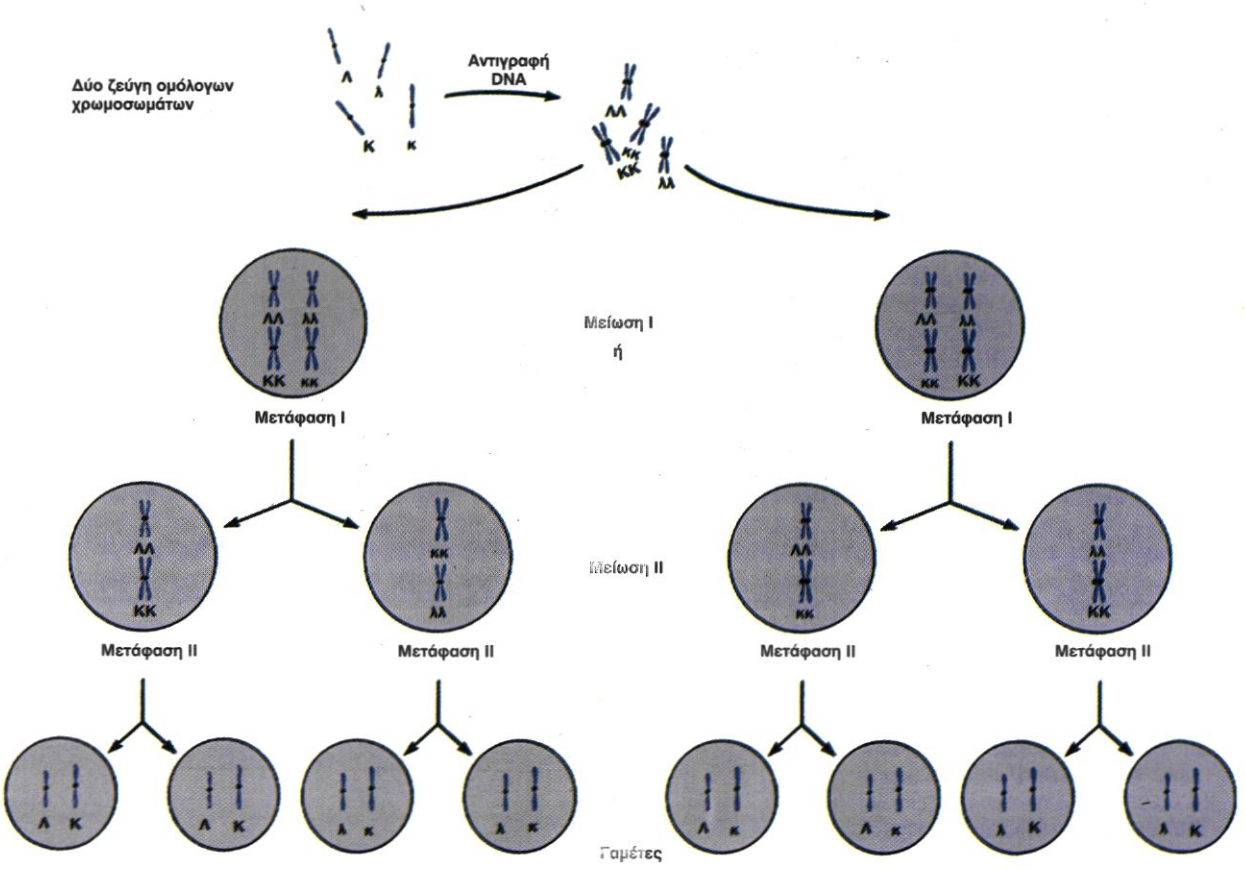
πραγματοποίησε επιπλέον διασταυρώσεις. Διασταύρωσε ψηλά φυτά άγνωστου γονότυπου με κοντά (ψψ) φυτά. Όταν ένα ψηλό φυτό, που διασταυρωνόταν με ένα κοντό (ψψ) φυτό, έδινε ψηλούς και κοντούς απογόνους, τότε ο Mendel ήξερε ότι το φυτό ήταν Ψψ (ετερόζυγο), ενώ αν έδινε μόνο ψηλά φυτά, ήταν ΨΨ (ομόζυγο). Η διασταύρωση ενός ατόμου άγνωστου γονότυπου με ένα άτομο ομόζυγο για το υπολειπόμενο αλληλόμορφο γονίδιο ονομάζεται **διασταύρωση ελέγχου** (Εικόνα 5.6). Το ομόζυγο υπολειπόμενο άτομο έχει πάντοτε ένα μόνο γονότυπο που καθορίζει και το φαινότυπο, δηλαδή ένα κοντό φυτό είναι πάντοτε ψψ.

Ο δεύτερος νόμος του Mendel περιγράφει τον τρόπο κληρονόμησης δύο γονιδίων - Νόμος της ανεξάρτητης μεταβίβασης των γονιδίων

Σε μια δεύτερη σειρά πειραμάτων ο Mendel μελέτησε την κληρονομικότητα δύο διαφορετικών χαρακτήρων. Οι χαρακτήρες που επέλεξε ήταν το σχήμα και το χρώμα του σπέρματος. Το σχήμα του σπέρματος μπορεί να είναι λείο ή ρυτιδωμένο (καθορίζεται από τα αλληλόμορφα Λ,λ) και το χρώμα είναι κίτρινο ή πράσινο (καθορίζεται από τα αλληλόμορφα Κ,κ). Όταν ο Mendel διασταύρωσε αμιγή φυτά με λεία και κίτρινα σπέρματα με φυτά που είχαν ρυτιδωμένα και πράσινα σπέρματα, όλοι οι απόγονοι είχαν λεία και κίτρινα σπέρματα. Έβγαλε συνεπώς το συμπέρασμα ότι το αλληλόμορφο που καθορίζει το λείο σχήμα σπέρματος είναι επικρατές έναντι του ρυτιδωμένου, και, αντίστοιχα, αυτό που καθορίζει το κίτρινο χρώμα είναι επικρατές του πράσινου.

Στη συνέχεια, διασταύρωσε τα φυτά της F_1 (γονότυπος ΛλΚκ) μεταξύ τους. Ο Mendel παρατήρησε τέσσερις τύπους σπερμάτων στην F_2 γενιά: λεία και κίτρινα, λεία και πράσινα, ρυτιδωμένα και κίτρινα, καθώς και ρυτιδωμένα και πράσινα σε αναλογία **9:3:3:1**. Βασιζόμενος σε αυτά τα αποτελέσματα ο Mendel πρότεινε το **δεύτερο νόμο της ανεξάρτητης μεταβίβασης των γονιδίων**, που αναφέρει

Εικόνα 5.7 Ανεξάρτητη μεταβίβαση των γονιδίων που βρίσκονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα προκύπτει από την τυχαία διάταξη των ζευγών χρωμοσωμάτων κατά τη μετάφαση της μείωσης Ι. Ένα άτομο με γονότυπο ΛλΚκ, για παράδειγμα, μπορεί να δημιουργήσει τέσσερις τύπους γαμετών, τους ΛΚ, Λκ λκ, και λΚ. Ο συνδυασμός των αλληλομόρφων εξαρτάται από ποια χρωμοσώματα βρίσκονται στον ίδιο γαμέτη που είναι τυχαίο γεγονός.



ότι το γονίδιο που ελέγχει ένα χαρακτήρα δεν επηρεάζει τη μεταβίβαση του γονιδίου που ελέγχει έναν άλλο χαρακτήρα. Σήμερα είναι γνωστό ότι αυτό ισχύει μόνο για γονίδια που βρίσκονται σε διαφορετικά ζεύγη ομόλογων χρωμοσωμάτων. Ο ανεξάρτητος διαχωρισμός των γονιδίων γίνεται, επειδή τα χρωμοσώματα κάθε γονέα συνδυάζονται με τυχαίο τρόπο κατά τη δημιουργία των γαμετών (Εικόνα 5.7). Οι διασταυρώσεις αυτού του τύπου, που μελετάται ο τρόπος κληρονόμησης δύο χαρακτήρων, ονομάζονται **διασταυρώσεις διυβριδισμού**. Στις διασταυρώσεις αυτές κάθε γονέας μπορεί να παράγει τέσσερα είδη γαμετών: ΛΚ, Λκ, λΚ και λκ (με ίση πιθανότητα για τον καθένα). Το τετράγωνο του Punnett γι' αυτή τη διασταύρωση προσδιορίζει τη φαινοτυπική αναλογία των δημιουργούμενων ατόμων, όπως ακριβώς τους προσδιόρισε ο Mendel (Εικόνα 5.8).

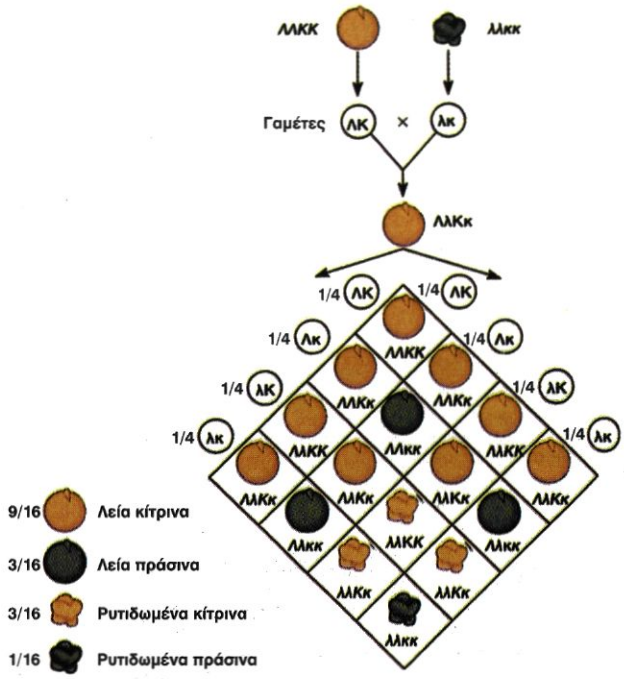
Το ξεκίνημα μιας νέας επιστήμης

Το δέκατο ένατο αιώνα έγινε πολύ δημοφιλής η θεωρία σύμφωνα με την οποία η κληρονομικότητα ελέγχεται από μέρη του σώματος. Στα μέρη αυτά δόθηκαν διάφορα ονόματα, όπως πανγονίδια, ιδιοβλάστες, βιοβλάστες και πολλά άλλα. Εκείνη την εποχή ένας από τους ερευνητές αντιμετώπισε με διαφορετικό τρόπο την έννοια της κληρονομικότητας και δημιούργησε την επιστήμη της Γενετικής. Το όνομα του ήταν Gregor Mendel και η αξία της δουλειάς του αναγνωρίστηκε εικοσιπέντε χρόνια μετά το θάνατό του.

Όταν ήταν παιδί ο Mendel ασχολήθηκε με την καλλιέργεια της γης. Προσπάθησε να ξεφύγει από τη μεγάλη φτώχεια στην οποία ζούσε στο σημερινό τμήμα της Τσεχίας, στα σύνορα με την Πολωνία, πηγαίνοντας να σπουδάσει στο Πανεπιστήμιο Φυσικές Επιστήμες, ενώ παράλληλα ήταν μοναχός στο Αυγουστινιανό μοναστήρι του Brno. Εκεί ασχολήθηκε με την καλλιέργεια των φυτών και δημιούργησε ένα θερμοκήπιο για πειραματική μελέτη. Η εργασία του πάνω στο μοσχομπίζελο τον οδήγησε στην ανακάλυψη των μηχανισμών της κληρονομικότητας.

Ύστερα από εννέα χρόνια προσεκτικών διασταυρώσεων οδηγήθηκε στην ανάλυση της μεταβίβασης ξεχωριστών «παραγόντων» στους απογόνους, παρ' όλο που δεν ήξερε πώς περνούσε η πληροφορία με τη φυσική έννοια. Το 1865 παρουσίασε τα αποτελέσματα των πειραμάτων του, τα οποία όμως αγνοήθηκαν από την επιστημονική κοινότητα. Πολλοί λίγοι κατανόησαν ότι παρουσίαζε βασικές αρχές, που εφαρμόζονταν και πέρα από τα μπιζέλια. Ο Mendel έστειλε τα αποτελέσματά του στον Karl Wilhelm von Nageli, ένα σημαντικό Ελβετό βοτανικό, ο οποίος δεν τα θεώρησε σημαντικά. Απογοητευμένος ο Mendel ξαναδημοσίευσε νέα αποτελέσματα το 1869, τα οποία πάλι αγνοήθηκαν. Αποκαρδιωμένος εγκατέλειψε για πάντα τα πειράματά του και ασχολήθηκε πλέον με τη διοίκηση του μοναστηριού έως το θάνατό του. Το 1900 οι βοτανικοί Hugo de Vries στην Ολλανδία, Carl Correns στη Γερμανία και Erich von Tschermak στην Αυστρία διάβασαν τις δημοσιεύσεις του Mendel και κατάλαβαν την αξία τους, επειδή και οι ίδιοι είχαν καταλήξει σε παρόμοια πειραματικά αποτελέσματα. Οι θεωρίες του Mendel έγιναν περισσότερο αποδεκτές τα επόμενα χρόνια, όταν αποκαλύφθηκε από τον Walter Sutton ο ρόλος των χρωμοσωμάτων στην κληρονομικότητα. Τα χρωμοσώματα αποτελούσαν τη φυσική βάση αυτών που περιέγραψε ο Mendel. Οι «παράγοντες κληρονομικότητας» ονομάστηκαν γονίδια το 1909 από τον Wilhelm Johannsen και ο όρος Γενετική χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Άγγλο βιολόγο William Bateson. Τα επόμενα χρόνια έως και τις ημέρες μας η επιστήμη αυτή αναπτύχθηκε και εξελίχθηκε με ταχείς ρυθμούς.

Εικόνα 5.8 Το τετράγωνο του Punnett χρησιμοποιείται για την αναπαράσταση των τυχαίων συνδυασμών των γαμετών και σε μια διασταύρωση διυβριδισμού.



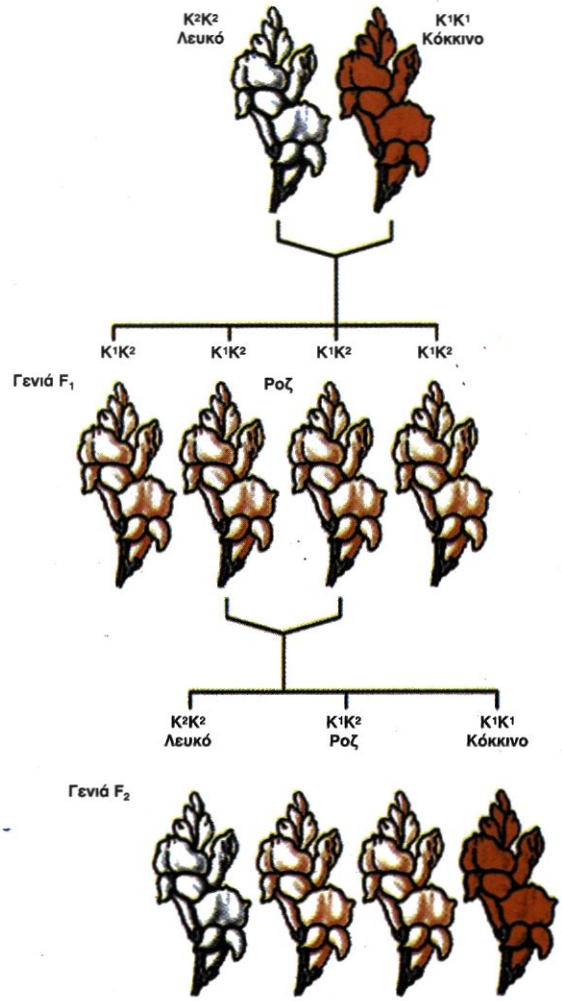
Όταν η γονιδιακή έκφραση τροποποιεί τις αναλογίες που προκύπτουν από τους νόμους του Mendel

Μερικές φορές οι φαινοτυπικές αναλογίες των απογόνων δεν είναι αυτές που αναμένονται από τους νόμους του Mendel. Σε αυτές τις περιπτώσεις μπορεί να φαίνεται ότι δεν ισχύουν οι νόμοι του Mendel δε συμβαίνει όμως αυτό στην πραγματικότητα. Μερικές από αυτές τις περιπτώσεις αναφέρονται στη συνέχεια.

Ατελώς επικρατή και συνεπικρατή γονίδια

Μερικά γονίδια είναι **ατελώς επικρατή**, οπότε ο φαινότυπος των ετερόζυγων ατόμων είναι ενδιάμεσος μεταξύ των δύο ομόζυγων. Όταν διασταυρώνεται ένα φυτό *Antirhinum* (σκυλάκι) με κόκκινα άνθη (K^1K^1) με ένα άλλο φυτό που έχει λευκά άνθη (K^2K^2), οι απόγονοι της F_1 γενιάς έχουν άνθη με ενδιάμεσο χρώμα (K^1K^2), ροζ. Στην F_2 γενιά η γονοτυπική αναλογία είναι ίδια με τη φαινοτυπική, δηλαδή 1 κόκκινο (K^1K^1): 2 ροζ (K^1K^2): 1 λευκό (K^2K^2) (Εικόνα 5.9).

Επειδή σ' αυτή την περίπτωση ο φαινότυπος των ετερόζυγων ατόμων διαφέρει από το φαινότυπο των ομόζυγων, η αναλογία είναι διαφορετική από την αναλογία 3:1 που παρατηρείται στις περιπτώσεις των επικρατών-υπολειπόμενων γονιδίων. Όταν ένα ετερόζυγο άτομο έχει φαινότυπο που είναι ενδιάμεσος ως προς τους αντίστοιχους των δύο γονέων του, τότε τα γονίδιά του ονομάζονται ατελώς επικρατή. Σε τέτοιου τύπου διασταυρώσεις οι γονοτυπικές και φαινοτυπικές αναλογίες είναι ίδιες.



Εικόνα 5.9 Ατελώς επικρατή γονίδια που καθορίζουν το χρώμα ανθέων στο φυτό σκυλάκι. Από τη διασταύρωση ενός ομόζυγου φυτού με κόκκινα άνθη (K^1K^1), με ένα ομόζυγο φυτό με λευκά άνθη (K^2K^2) προκύπτουν στην F_1 γενιά φυτά με ροζ άνθη (K^1K^2). Στην F_2 γενιά δημιουργούνται φυτά με κόκκινα (K^1K^1), ροζ (K^1K^2) και λευκά (K^2K^2) άνθη, σε αναλογία 1:2:1.

Υπάρχουν όμως περιπτώσεις στις οποίες στα ετερόζυγα άτομα εκφράζονται και τα δύο αλληλόμορφα στο φαινότυπο. Στην περίπτωση αυτή τα γονίδια ονομάζονται **συνεπικρατή**. Δύο από τα αλληλόμορφα του γονιδίου που καθορίζει τον τύπο των ομάδων αίματος ΑΒΟ του ανθρώπου είναι συνεπικρατή. Τα άτομα με ομάδα αίματος Α έχουν στην επιφάνεια των ερυθροκυττάρων τους αντιγόνο

τύπου Α. Άτομα ομάδας αίματος Β έχουν αντιγόνο Β. Ένα άτομο ομάδας αίματος ΑΒ έχει αντιγόνα Α και Β, ενώ ένα άτομο ομάδας αίματος Ο δεν έχει κανένα αντιγόνο.

Το γονίδιο Ι, που καθορίζει τις ομάδες αίματος, έχει τρία αλληλόμορφα. Τα I^A και I^B κωδικοποιούν τα ένζυμα που σχηματίζουν τα Α και Β αντιγόνα αντίστοιχα, ενώ το i δεν κωδικοποιεί κάποιο ένζυμο.Τα I^A και I^B είναι συνεπικρατή, ενώ το i είναι υπολειπόμενο. Άτομα ομάδας Α έχουν γονότυπο, I^AI^A ή I^Ai. Άτομα ομάδας Β έχουν γονότυπο I^BI^B ή I^Bi, ενώ άτομα ΑΒ έχουν I^AI^B. Τα άτομα ομάδας Ο είναι ii. (Πίνακας 5.1).

ΠΙΝΑΚΑΣ 5.1: Τα αλληλόμορφα που καθορίζουν τις ομάδες αίματος Α,Β,Ο του ανθρώπου

Φαινότυπος (ομάδα αίματος)	Γονότυπος
A	I^AI^A ή I^Ai
B	I^BI^B ή I^Bi
AB	I^AI^B
O	ii

Σκεφθείτε

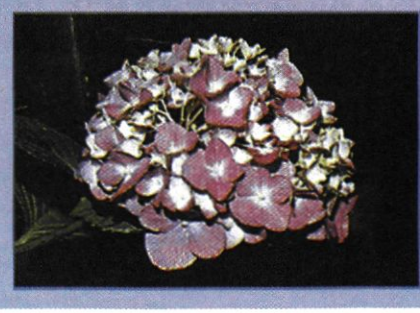
Είναι δυνατόν δύο γονείς που έχουν ομάδες αίματος Α και Β να αποκτήσουν ένα παιδί με ομάδα αίματος 0;

Όταν οι νόμοι του Mendel δεν εφαρμόζονται

Οι χαρακτήρες τους οποίους μελέτησε ο Mendel, παρ' όλο που δεν το ήξερε, ελέγχονται από γονίδια που βρίσκονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα. Όταν τα γονίδια είναι στο ίδιο χρωμόσωμα, δε διαχωρίζονται κατά τη μείωση, αλλά μεταφέρονται μαζί στους ίδιους γαμέτες. Ο όρος **σύνδεση** αφορά τη μεταβίβαση των γονιδίων που βρίσκονται στο ίδιο χρωμόσωμα. Τα **συνδεδεμένα γονίδια** δε μεταβιβάζονται ανεξάρτητα και δε δίνουν τις αναλογίες που καθόρισε ο Mendel για τις διασταυρώσεις μονοϋβριδισμού και διυβριδισμού. Μία άλλη περίπτωση κατά την οποία δεν εφαρμόζονται οι νόμοι του Mendel είναι η κληρονομικότητα των γονιδίων που βρίσκονται στο μιτοχονδριακό DNA. Τα μιτοχονδριακά γονίδια μεταβιβάζονται μόνο από τη μητέρα στους απογόνους. Αυτό συμβαίνει επειδή τα σπερματοζωάρια δε μεταφέρουν τα μιτοχόνδριά τους κατά τη γονιμοποίηση στα ωάρια.

Το περιβάλλον επιδρά στην έκφραση των γονιδίων

Η έκφραση ορισμένων γονιδίων είναι ιδιαίτερα ευαίσθητη σε παράγοντες του περιβάλλοντος. Στη φαινυλκετονουρία, μια ασθένεια που εξετάζεται στις μεταλλάξεις, η κατάλληλη διατροφή μπορεί να εξαφανίσει ένα φαινότυπο. Η θερμοκρασία επίσης επηρεάζει τη γονιδιακή έκφραση σε ορισμένα ζώα. Στις γάτες του Σιάμ και στα κουνέλια των Ιμαλαΐων, τα αυτιά, η μύτη, τα πόδια και η ουρά είναι πιο σκούρα από το υπόλοιπο σώμα, επειδή αυτά τα μέρη είναι πιο κρύα. Η δράση των ενζύμων που είναι υπεύθυνα για το χρώμα εξαρτάται από τη θερμοκρασία του σώματος και αναστέλλεται σε υψηλές θερμοκρασίες. Στη Drosophila, επίσης, γονίδια ευαίσθητα στη θερμοκρασία οδηγούν σε παράξενους φαινότυπους. Τα φυτά της φωτογραφίας που έχουν τον ίδιο γονότυπο αλλάζουν χρώμα ανάλογα με το pH του εδάφους.



Θνησιγόνα αλληλόμορφα

Τα γονίδια αρχίζουν τη λειτουργία τους πολύ σύντομα μετά τη γονιμοποίηση. Μερικά αλληλόμορφα δημιουργούν τόσο σοβαρά προβλήματα σε ένα έμβρυο που οδηγούν σε διακοπή της ανάπτυξης συνήθως πριν από την 8η εβδομάδα. Ένα τέτοιο άτομο δεν επιβιώνει μέχρι τη γέννηση και συνεπώς ο αντίστοιχος φαινότυπος χάνεται. Το αλληλόμορφο που προκαλεί πρόωρο θάνατο ονομάζεται **θνησιγόνο**. Τα θνησιγόνα αλληλόμορφα προκαλούν αυτόματες αποβολές, δηλαδή πρόωρο τερματισμό της κύησης. Όταν ένας άνδρας και μια γυναίκα έχουν ο καθένας από ένα υπολειπόμενο θνησιγόνο αλλη-

λόμορφο για το ίδιο γονίδιο, κάθε απόγονός τους έχει 25% πιθανότητα να είναι ομόζυγος γι' αυτά και συνεπώς να μην επιβιώνει μέχρι τη γέννηση.

Πολλαπλά αλληλόμορφα

Είναι γνωστό ότι στα διπλοειδή κύτταρα υπάρχουν δύο αλληλόμορφα για μία ορισμένη γενετική θέση, ενώ ένα απλοειδές κύτταρο, όπως ένας γαμέτης, έχει μόνο ένα. Εντούτοις, εάν εξετάσουμε ένα πληθυσμό ατόμων μπορεί να βρούμε περισσότερα από δύο αλληλόμορφα για μία γενετική θέση. Εάν στον πληθυσμό υπάρχουν τρία ή περισσότερα αλληλόμορφα για μία γενετική θέση, τότε αυτά ονομάζονται **πολλαπλά αλληλόμορφα**. Πολλά γονίδια που ευθύνονται για τη δημιουργία ασθενειών έχουν πολλαπλά αλληλόμορφα γονίδια, όπως συμβαίνει στη β-θαλασσαιμία. Συνήθως κάθε αλληλόμορφο του φυσιολογικού γονιδίου σχετίζεται με διαφορετική μορφή της ίδιας ασθένειας, ήπια ή σοβαρή. Τα γονίδια που καθορίζουν την ομάδα αίματος, σύμφωνα με το σύστημα ΑΒΟ, είναι επίσης πολλαπλά αλληλόμορφα. Τα πολλαπλά αλληλόμορφα μπορεί να αλλάζουν τις αναλογίες των νόμων του Mendel, επειδή δημιουργούν πολλά είδη φαινοτύπων λόγω των διαφορετικών συνδυασμών που γίνονται.

Στον άνθρωπο εφαρμόζεται η Μενδελική κληρονομικότητα

Το μοσχομπίζελο είναι ιδανικό για τη μελέτη του τρόπου μεταβίβασης των κληρονομικών χαρακτήρων, δηλαδή των **τύπων κληρονομικότητας**. Στον άνθρωπο όμως η μελέτη αυτή εμφανίζει πολλές δυσκολίες. Αυτό συμβαίνει, επειδή οι άνθρωποι έχουν μικρό αριθμό απογόνων, ενώ η κάθε γενιά έχει μεγάλη διάρκεια, περίπου 20-30 χρόνια. Επιπλέον στον άνθρωπο δεν είναι δυνατόν να γίνουν διασταυρώσεις ανάλογες με εκείνες που έκανε ο Mendel, χρησιμοποιώντας το μοσχομπίζελο. Παρ' όλες τις δυσκολίες η Γενετική Ανθρώπου έχει προοδεύσει λόγω του μεγάλου ενδιαφέροντος που υπάρχει για την κατανόηση του τρόπου κληρονόμησης διάφορων χαρακτήρων από τους γονείς στους απογόνους καθώς και του τρόπου κληρονόμησης διάφορων ασθενειών.

Η μελέτη του τρόπου κληρονόμησης των διάφορων χαρακτήρων γίνεται στα άτομα μεγάλων οικογενειών. Όσο περισσότερα άτομα μπορούν να μελετηθούν σε μια οικογένεια τόσο ευκολότερο είναι να καθοριστεί ο τύπος κληρονομικότητας. Είναι βασικό να τονιστεί ότι στον άνθρωπο, το Μενδελικό τύπο κληρονομικότητας ακολουθούν οι χαρακτήρες που καθορίζονται από αλληλόμορφα ενός μόνο γονιδίου. Αυτοί ονομάζονται **μονογονιδιακοί χαρακτήρες** και σε αυτούς περιλαμβάνονται διάφορες μονογονιδιακές ασθένειες.

Τα γενεαλογικά δένδρα αποτελούν σημαντικό εργαλείο για τη μελέτη της κληρονομικότητας στον άνθρωπο

Οι πληροφορίες που συλλέγονται από το ιστορικό μιας οικογένειας για έναν ορισμένο χαρακτήρα αναπαριστώνται σε ένα γενεαλογικό δένδρο, που περιγράφει τις σχέσεις γονέων και παιδιών σε πολλές γενιές. Το **γενεαλογικό δένδρο**, δηλαδή, είναι η διαγραμματική απεικόνιση των μελών μιας οικογένειας για πολλές γενιές, στην οποία αναπαριστώνται οι γάμοι, η σειρά των γεννήσεων, το φύλο των ατόμων και ο φαινότυπός τους σε σχέση με κάποιο συγκεκριμένο χαρακτήρα.

Κάθε άτομο που απεικονίζεται στο γενεαλογικό δένδρο χαρακτηρίζεται από δύο αριθμούς: ένα λατινικό, ο οποίος προσδιορίζει τη γενιά του ατόμου (σε σχέση με την πατρική) και έναν αραβικό, ο οποίος δηλώνει τη σειρά του ατόμου μέσα στη γενιά του. Τα αρσενικά άτομα αναπαριστώνται με ένα τετράγωνο και τα θηλυκά με έναν κύκλο. Για άτομα των οποίων δε γνωρίζουμε το φύλο χρησιμοποιείται ο ρόμβος. Χρησιμοποιούνται επίσης σύμβολα για να αναπαραστήσουν τους γάμους ανάμεσα σε δύο άτομα, τους απογόνους ενός γάμου, τα άτομα που εμφανίζουν ένα συγκεκριμένο χαρακτήρα, καθώς και άλλα στοιχεία. Τα σύμβολα που συνήθως χρησιμοποιούνται παρατίθενται στην Εικόνα 5.10.

Τα γενεαλογικά δένδρα συνεισφέρουν σημαντικά στη μελέτη του τρόπου κληρονόμησης διάφορων χαρακτήρων και βοηθούν στη γενετική καθοδήγηση.

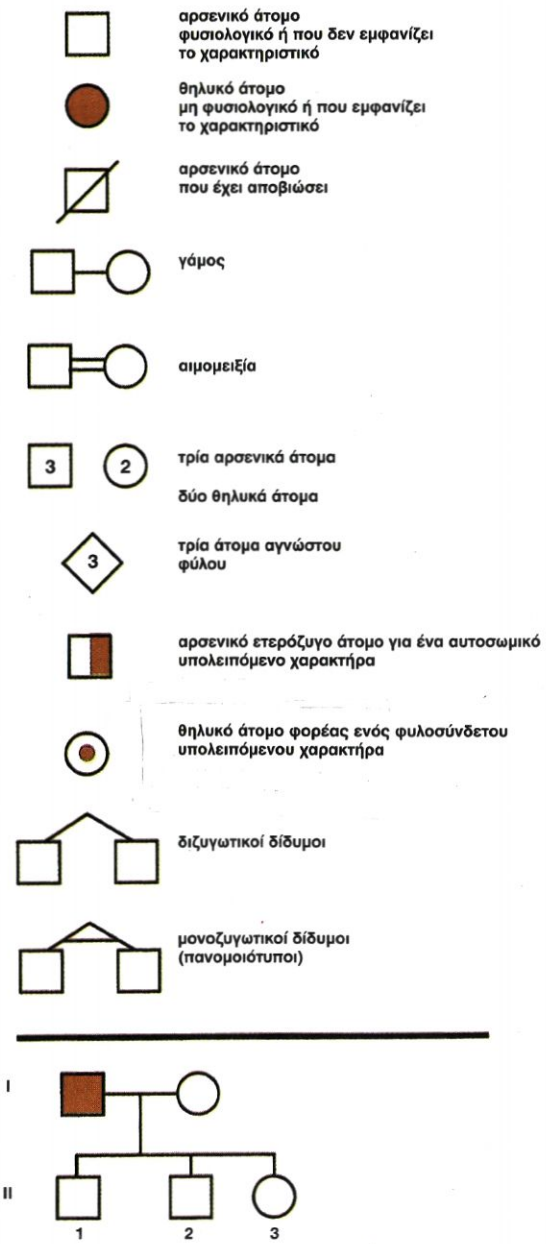
Στο γενεαλογικό δένδρο της Εικόνας 5.11 μελετάται σε μια οικογένεια ο τρόπος κληρονόμησης δύο χαρακτήρων, της γραμμής τριχοφυΐας με κορυφή (επικρατής αυτοσωμικός) και των προσκολλημένων λοβών αυτιών (υπολειπόμενος αυτοσωμικός). Ο χαρακτήρας γραμμή τριχοφυΐας με κορυφή καθορίζεται από ένα επικρατές αυτοσωμικό αλληλόμορφο που συμβολίζεται με Γ. Όλα τα άτομα στην οικογένεια που δεν εμφανίζουν γραμμή τριχοφυΐας με κορυφή είναι ομόζυγα για το υπολειπόμενο αλληλόμορφο, με γονότυπο γγ. Είναι προφανές ότι ο παππούς και η γιαγιά που έχουν γραμμή τριχοφυΐας με κορυφή είναι ετερόζυγοι, γιατί εάν ήταν ομόζυγοι όλα τα παιδιά τους θα είχαν γραμμή τριχοφυΐας με κορυφή.

Στην ίδια εικόνα φαίνεται το γενεαλογικό δένδρο της ίδιας οικογένειας αλλά αυτή τη φορά αναλύεται ένας υπολειπόμενος χαρακτήρας, συγκεκριμένα οι προσκολλημέ-

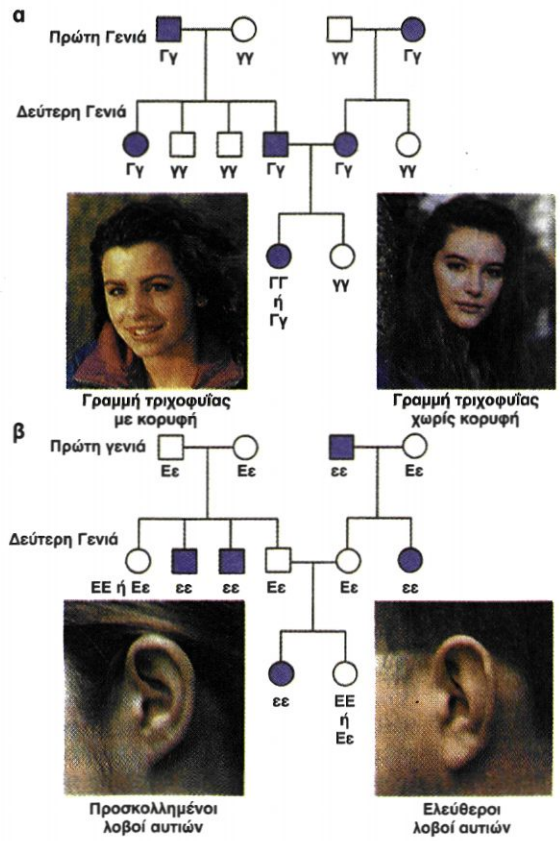
νοι λοβοί των αυτιών. Ο χαρακτήρας προσκολλημένοι λοβοί των αυτιών καθορίζεται από το υπολειπόμενο αλληλόμορφο που συμβολίζεται με ε, ενώ το αντίστοιχο επικρατές συμβολίζεται με Ε, επειδή δημιουργεί ελεύθερους λοβούς αυτιών. Από το γενεαλογικό δένδρο φαίνεται πως οι χαρακτήρες κληρονομούνται σύμφωνα με τους νόμους του Mendel (Εικόνα 5.11β).

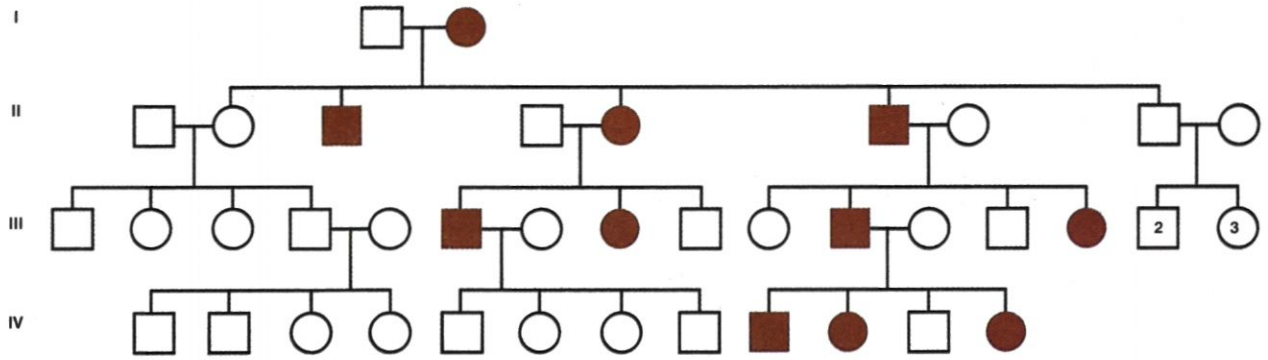
Ένα γενεαλογικό δένδρο δε μας βοηθά μόνο να καταλάβουμε το παρελθόν αλλά και να προσδιορίσουμε το μέλλον. Υποθέστε ότι το ζευγάρι της δεύτερης γενιάς (ΙΙ) της Εικόνας 5.11α αποφασίζει να αποκτήσει ένα ακόμη παιδί. Ποια είναι η πιθανότητα το παιδί να έχει γραμμή τριχοφυΐας με κορυφή; Αυτό αποτελεί μια διασταύρωση F_1 κατά Mendel (Γγ x Γγ) και επομένως η πιθανότητα το παιδί να έχει επικρατή φαινότυπο είναι 3/4. Ποια είναι η πιθανότητα το παιδί να έχει προσκολλημένους λοβούς; Αυτό αντιμετωπίζεται πάλι ως μια διασταύρωση μονοϋβριδισμού της F_1 (Εε x Εε), αλλά αυτή τη φορά χρειάζεται να προσδιορισθεί η πιθανότητα ο απόγονος να είναι ομόζυγος για το υπολειπόμενο αλληλόμορφο: Η πιθανότητα είναι 1/4 (Εικόνα 5.11 β). Ποια είναι η πιθανότητα το παιδί να έχει γραμμή τριχοφυΐας με κορυφή και προσκολλημένους λοβούς; Εάν τα δύο ζευγάρια γονιδίων μεταβιβάζονται ανεξάρτητα το ένα από το άλλο, τότε η πιθανότητα θα είναι 3/4 (πιθανότητα για γραμμή τριχοφυΐας με κορυφή) x 1/4 (πιθανότητα για προσκολλημένους λοβούς) = 3/16 (πιθανότητα για γραμμή τριχοφυΐας με κορυφή και προσκολλημένους λοβούς). Η ανάλυση των γενεαλογικών δένδρων έχει ιδιαίτερη σημασία όταν τα αλληλόμορφα που μελετώνται σχετίζονται με τη δημιουργία ασθενειών.

Εικόνα 5.10 Τα κύρια σύμβολα που χρησιμοποιούνται στα γενεαλογικά δένδρα.



Εικόνα 5.11 Κληρονομικότητα αυτοσωμικών επικρατών και υπολειπόμενων χαρακτήρων στον άνθρωπο.
α. Κληρονομικότητα γραμμής τριχοφυΐας με κορυφή (επικρατής χαρακτήρας). Η κληρονομικότητα ανιχνεύεται σε τρεις γενιές.
β. Κληρονομικότητα προσκολλημένων λοβών αυτιών (υπολειπόμενος χαρακτήρας). Η κληρονομικότητα ανιχνεύεται στην ίδια οικογένεια.





Εικόνα 5.12 Το γενεαλογικό δένδρο μιας οικογένειας στην οποία εμφανίζεται μια ασθένεια που κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή τύπο κληρονομικότητας. Η ασθένεια εμφανίζεται σε κάθε γενιά τόσο σε αρσενικά όσο και σε θηλυκά άτομα.

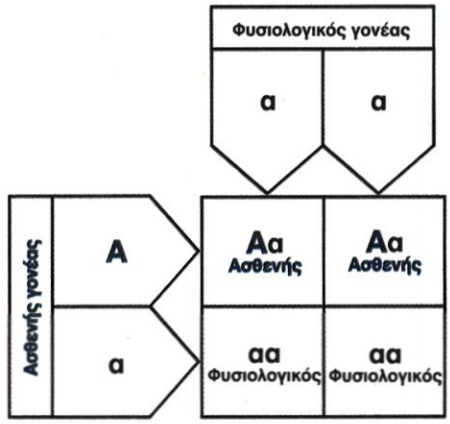
Αυτοσωμική επικρατής κληρονομικότητα

Ένας αυτοσωμικός επικρατής χαρακτήρας εκδηλώνεται, εκτός από το ομόζυγο άτομο και σε άτομο ετερόζυγο για το χαρακτήρα αυτό. Η συχνότητα μερικών ασθενειών που κληρονομούνται με αυτοσωμικό επικρατή τρόπο είναι αρκετά υψηλή, όπως συμβαίνει με την οικογενή υπερχοληστερολαιμία (συχνότητα 1:500 άτομα), που σχετίζεται με αυξημένο κίνδυνο πρώιμης εμφάνισης στεφανιαίας νόσου.

Στην κλασική αυτοσωμική επικρατή κληρονομικότητα κάθε ασθενής στο γενεαλογικό δένδρο έχει έναν τουλάχιστον ασθενή γονέα (Εικόνα 5.12). Στις περισσότερες από τις περιπτώσεις που έχουν μελετηθεί ο ένας γονέας είναι συνήθως ετερόζυγος για το συγκεκριμένο γονίδιο και ο άλλος ομόζυγος για το φυσιολογικό υπολειπόμενο αλληλόμορφο. Συνεπώς οι γονότυποι των γονέων συμβολίζονται Αα x αα, όπου Α επικρατές γονίδιο που σχετίζεται με την ασθένεια και α το φυσιολογικό αλληλόμορφο (Εικόνα 5.13).

Κάθε απόγονος των ανωτέρω γονέων έχει 50% πιθανότητα να κληρονομήσει το αλληλόμορφο Α του ασθενούς γονέα και να είναι και ο ίδιος ασθενής (Αα), καθώς και 50% πιθανότητα να κληρονομήσει το φυσιολογικό αλληλόμορφο α και να είναι φυσιολογικός (αα). Ο φυσιολογικός γονέας μεταβιβάζει μόνο το φυσιολογικό αλληλόμορφο α σε κάθε παιδί του. Κάθε κύηση είναι ένα ανεξάρτητο γεγονός, που δε σχετίζεται με το αποτέλεσμα προηγούμενων κυήσεων. Η θεωρητικά αναμενόμενη αναλογία 1:1 φυσιολογικών και ασθενών ατόμων, η οποία παρατηρείται στον πληθυσμό, μπορεί να είναι διαφορετική όταν εξετάζεται ο μικρός αριθμός των ατόμων μέσα σε μια οικογένεια.

Στο γενεαλογικό δένδρο της Εικόνας 5.12 είναι εμφανές ότι κάθε ασθενές άτομο έχει έναν ασθενή γονέα, καθώς και ότι η ασθένεια προσβάλλει τόσο αρσενικά όσο και θηλυκά άτομα. Από φυσιολογικούς γονείς προκύπτουν μόνο φυσιολογικοί απόγονοι.



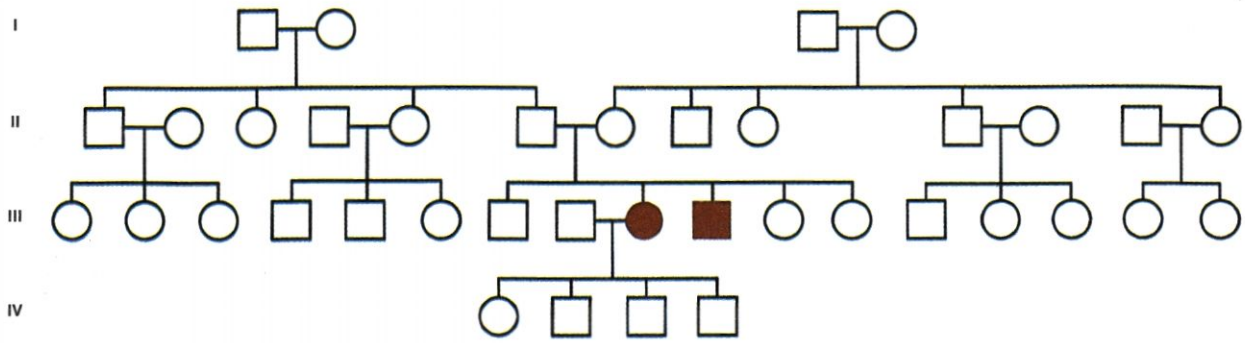
Α: επικρατές γονίδιο που δημιουργεί την ασθένεια
α: φυσιολογικό αλληλόμορφο

Εικόνα 5.13 Τετράγωνο του Punnett όπου φαίνονται οι πιθανοί γενετικοί συνδυασμοί για ένα χαρακτήρα που κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή τύπο κληρονομικότητας.

Εξαίρεση σε όσα αναφέρθηκαν παραπάνω αποτελούν οι περιπτώσεις εκείνες κατά τις οποίες η διαταραχή που εξετάζεται οφείλεται σε μια νέα μετάλλαξη, δηλαδή εμφανίζεται για πρώτη φορά μέσα στην οικογένεια.

Αυτοσωμική υπολειπόμενη κληρονομικότητα

Σε αντίθεση με τις αυτοσωμικές επικρατείς ασθένειες, στις οποίες τα ασθενή άτομα είναι συνήθως ετερόζυγα, οι αυτοσωμικές υπολειπόμενες ασθένειες εκδηλώνονται μόνο στα ομόζυγα άτομα, τα οποία έχουν κληρονομήσει ένα παθολογικό αλληλόμορφο από κάθε γονέα. Η δρεπανοκυτταρική αναιμία, η β-θαλασσαιμία και η κυστική ίνωση κληρονομούνται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας.

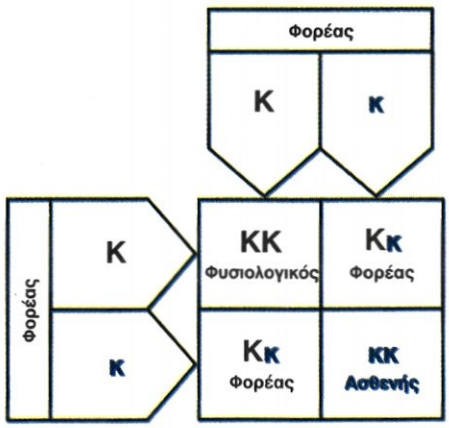


Εικόνα 5.14 Τυπικό γενεαλογικό δένδρο όπου μελετάται μια ασθένεια που κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας.

Στην εικόνα 5.14 φαίνεται ένα κλασικό γενεαλογικό δένδρο. Συνήθως και οι δύο γονείς ενός ασθενούς είναι ετερόζυγοι, έχουν φυσιολογικό φαινότυπο και ονομάζονται **φορείς**, επειδή μπορούν να μεταβιβάσουν το υπολειπόμενο αλληλόμορφο στους απογόνους. Στην περίπτωση που και οι δύο γονείς είναι φορείς, η πιθανότητα γέννησης παιδιού που πάσχει είναι 25% (Εικόνα 5.15).

Η πιθανότητα και οι δύο σύζυγοι να είναι φορείς της ίδιας ασθένειας που κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο είναι πολύ μικρή. Αυξάνεται όμως σε περίπτωση που οι δύο σύζυγοι είναι στενοί συγγενείς, όπως αδέλφια ή ξαδέλφια. Αυτό συμβαίνει, επειδή τα άτομα με κοινούς προγόνους είναι πιθανότερο να έχουν τα ίδια υπολειπόμενα αλληλόμορφα σε σχέση με άτομα μη συγγενικά. Στην περίπτωση που υπάρχει αιμομειξία συμβολίζεται στο γενεαλογικό δένδρο με διπλή γραμμή (Εικόνα 5.10).

Εικόνα 5.15 Τετράγωνο του Punnett, όπου φαίνονται οι πιθανοί γενετικοί συνδυασμοί για ένα χαρακτήρα που κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας.



Φυλοσύνδετη υπολειπόμενη κληρονομικότητα

Στον άνθρωπο υπάρχει ένα ζεύγος χρωμοσωμάτων, που ονομάζονται φυλετικά και διαφέρουν ανάμεσα σε αρσενικά και θηλυκά άτομα. Τα φυσιολογικά θηλυκά άτομα έχουν ένα ζεύγος όμοιων X χρωμοσωμάτων, ενώ τα φυσιολογικά αρσενικά άτομα έχουν ένα X και ένα Y χρωμόσωμα. Τα γονίδια που βρίσκονται στο X χρωμόσωμα και δεν έχουν αλληλόμορφα στο Y ονομάζονται φυλοσύνδετα και ο τρόπος με τον οποίο κληρονομούνται αναφέρεται ως φυλοσύνδετη κληρονομικότητα.

Η αιμορροφιλία A είναι μια κλασική φυλοσύνδετη διαταραχή, στην οποία το αίμα δεν πήζει φυσιολογικά λόγω έλλειψης του παράγοντα VIII, μιας αντιαιμορροφιλικής πρωτεΐνης. Το γονίδιο που είναι υπεύθυνο για την εμφάνιση της ασθένειας είναι υπολειπόμενο φυλοσύνδετο και συμβολίζεται με X^{a}. Το φυσιολογικό αλληλόμορφό του συμβολίζεται με X^{A} και είναι επικρατές. Επειδή τα αρσενικά άτομα έχουν ένα X χρωμόσωμα, ενώ τα θηλυκά έχουν δύο, θα υπάρχουν δύο πιθανοί γονότυποι στα αρσενικά: $X^{a}Y$ και $X^{A}Y$ και τρεις στα θηλυκά: $X^{a}X^{a}$, $X^{A}X^{a}$ και $X^{A}X^{A}$ (Πίνακας 5.2).

Η κληρονομικότητα των φυλοσύνδετων υπολειπόμενων γονιδίων ακολουθεί ένα εύκολα αναγνωρίσιμο πρότυπο (Εικόνα 5.16). Ένα υπολειπόμενο φυλοσύνδετο γονίδιο εκφράζεται φαινοτυπικά σε όλα τα αρσενικά άτομα που φέρουν το γονίδιο αλλά μόνο σε εκείνα τα θηλυκά που είναι ομόζυγα για το υπολειπόμενο γονίδιο. Συνεπώς, οι ασθένειες που ελέγχονται από υπολειπόμενα φυλοσύνδετα γονίδια εμφανίζονται συχνότερα στα αρσενικά άτομα και πάρα πολύ σπάνια στα θηλυκά άτομα.

Ο τρόπος κληρονόμησης της αιμορροφιλίας έχει μελετηθεί από πολύ παλιά. Ήταν γνωστό ότι η βασίλισσα Βικτω-

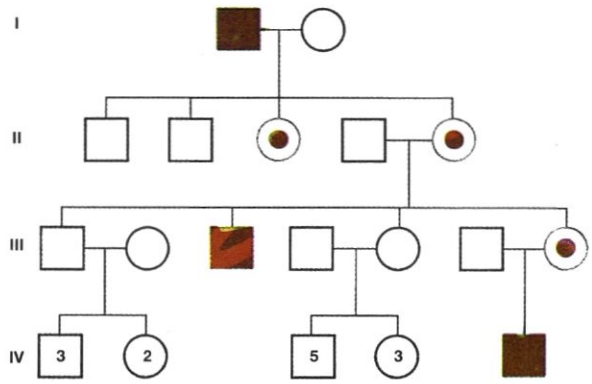
ΠΙΝΑΚΑΣ 5.2: Πιθανοί γονότυποι αρσενικών και θηλυκών ατόμων για την αιμορροφιλία.

	Γονότυποι	Φαινότυποι
Αρσενικά	$X^{A}Y$	Φυσιολογικός
	$X^{a}Y$	Άτομο με αιμορροφιλία
Θηλυκά	$X^{A}X^{A}$	Ομόζυγη φυσιολογική
	$X^{A}X^{a}$	Ετερόζυγη (φορέας)
	$X^{a}X^{a}$	Ομόζυγη αιμορροφιλική

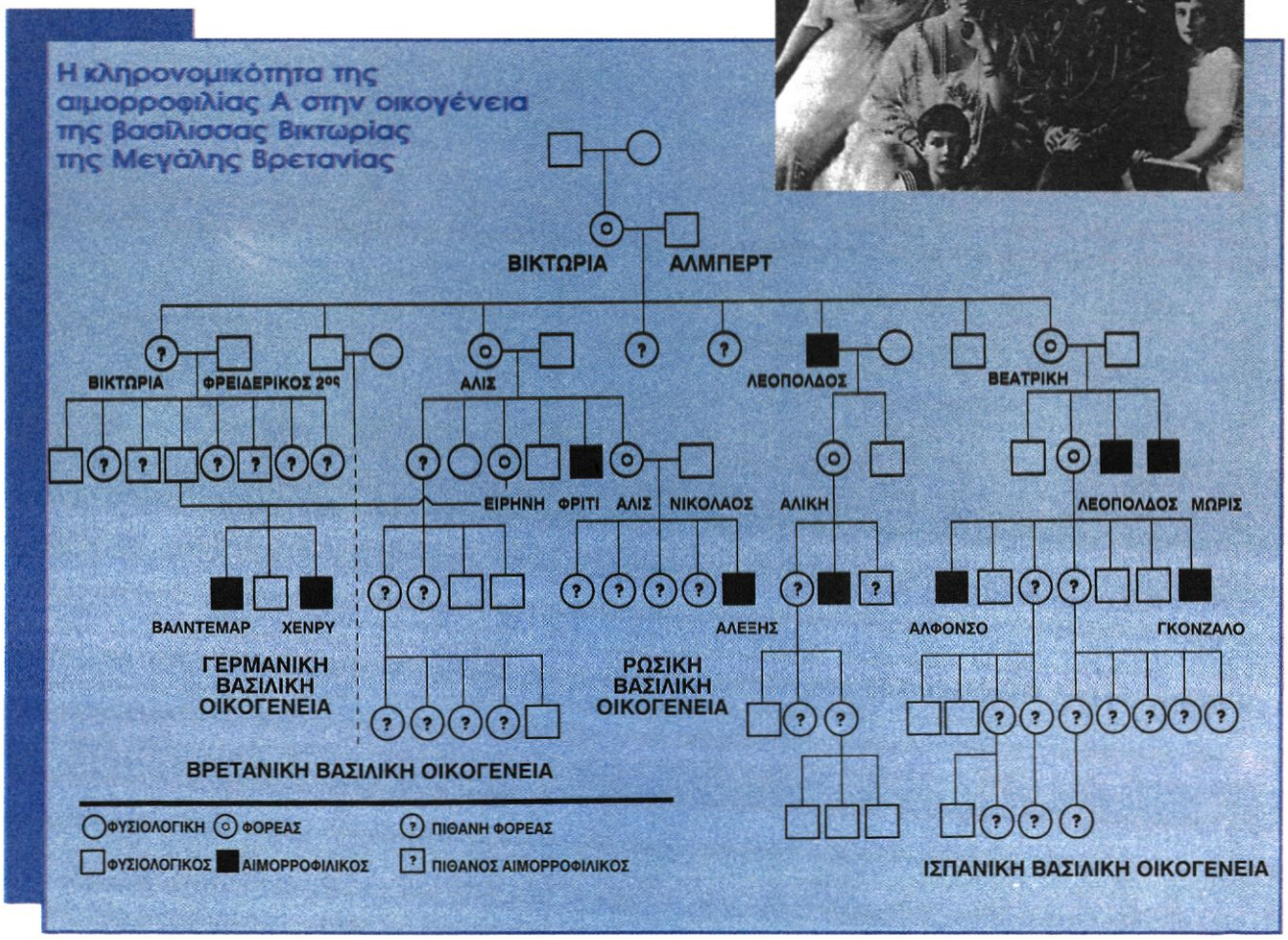
ρία ήταν φορέας και μεταβίβασε τη «βασιλική αιμορροφιλία» στους απογόνους της.

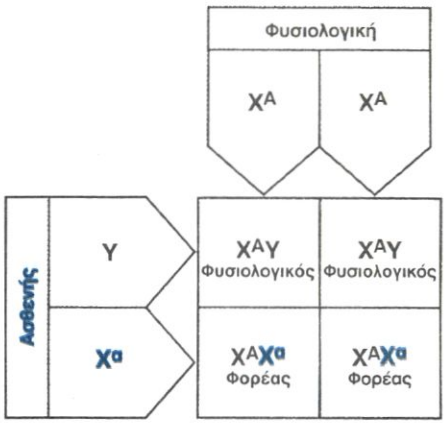
Εάν ένας αιμορροφιλικός άντρας παντρευτεί μια γυναίκα φυσιολογική (ομόζυγη), όλοι οι αρσενικοί απόγονοί του θα πάρουν το Y χρωμόσωμα από τον πατέρα τους και το X από τη μητέρα τους και θα είναι υγιείς, ενώ όλοι οι θηλυκοί απόγονοι θα είναι υποχρεωτικά φορείς (Εικόνα 5.17). Ας υποθέσουμε τώρα ότι ένας θηλυκός απόγονος της προηγούμενης περίπτωσης, δηλαδή μια φορέας της ασθένειας, παντρεύεται ένα φυσιολογικό άνδρα. Δημιουργούνται απόγονοι με τέσσερις γονοτύπους, που εμφανίζονται με ίση συχνότητα (Εικόνα 5.18). Είναι προφανές ότι η αιμορροφιλία που εμφάνιζε ο παππούς, και η οποία δεν εκδηλώθηκε σε κανένα από τα παιδιά του, έχει 50% πιθανότητα να μεταβιβαστεί, μέσω της κόρης του, στα αρσενικά εγγόνια του. Η κόρη μιας γυναίκας φορέα έχει επίσης 50% πιθανότητα να είναι και η ίδια φορέας, εάν ο πατέρας της είναι φυσιολογικός.

Με τον ίδιο τύπο κληρονομικότητας κληρονομείται και η μερική αχρωματοψία στο πράσινο και το κόκκινο χρώμα.

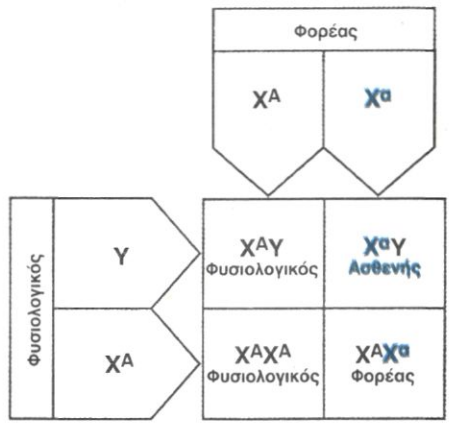


Εικόνα 5.16 Γενεαλογικό δένδρο μιας ασθένειας που κληρονομείται με φυλοσύνδετο υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας, όπως η αιμορροφιλία Α.





Εικόνα 5.17 Τετράγωνο του Punnett, όπου φαίνονται οι πιθανοί γενετικοί συνδυασμοί στην αιμορροφιλία Α, όταν η μητέρα είναι ομόζυγη φυσιολογική και ο πατέρας ασθενής.



Εικόνα 5.18 Τετράγωνο του Punnett, όπου φαίνονται οι πιθανοί γενετικοί συνδυασμοί στην αιμορροφιλία Α, όταν η μητέρα είναι φορέας και ο πατέρας φυσιολογικός.

Σκεφθείτε

Ποιες προϋποθέσεις απαιτούνται για να εκδηλωθεί ένα φυλοσύνδετο υπολειπόμενο γνώρισμα α. στα αρσενικά άτομα, β. στα θηλυκά άτομα;

Σκεφθείτε

Εάν άνδρας με μερική αχρωματοψία παντρευτεί μία φυσιολογική γυναίκα κανένα από τα παιδιά τους δεν έχει αχρωματοψία. Αλλά αν μία από τις κόρες τους παντρευτεί ένα φυσιολογικό άνδρα τότε υπάρχει 50% πιθανότητα οι γιοί τους να έχουν μερική αχρωματοψία. Πώς μπορεί να εξηγηθεί αυτό;

Περίληψη

Ο Gregor Mendel περιέγραψε δύο βασικούς νόμους της κληρονομικότητας, το νόμο του διαχωρισμού των αλληλόμορφων γονιδίων και το νόμο της ανεξάρτητης μεταβίβασης, βασιζόμενος στα αποτελέσματα διασταυρώσεων που έκανε στο φυτό μοσχομπίζελο.

Ο νόμος του διαχωρισμού των αλληλόμορφων καθορίζει ότι τα αλληλόμορφα ενός γονιδίου κατανέμονται σε διαφορετικούς γαμέτες κατά τη μείωση. Ένα διπλοειδές άτομο με δύο πανομοιότυπα αλληλόμορφα ενός γονιδίου είναι ομόζυγο, ενώ ένα ετερόζυγο έχει δύο διαφορετικά αλληλόμορφα. Ένα γονίδιο μπορεί να έχει πολλά αλληλόμορφα, που ονομάζονται πολλαπλά.

Τα επικρατή αλληλόμορφα καλύπτουν την έκφραση των υπολειπόμενων. Ένα άτομο μπορεί να είναι ομόζυγο επικρατές, ομόζυγο υπολειπόμενο ή ετερόζυγο.

Η διασταύρωση ελέγχου αποκαλύπτει έναν άγνωστο γονότυπο και είναι η διασταύρωση του ατόμου με τον άγνωστο γονότυπο με ένα άτομο ομόζυγο για το αντίστοιχο υπολειπόμενο αλληλόμορφο.

Ο νόμος της ανεξάρτητης μεταβίβασης περιγράφει τη μεταβίβαση δύο ή περισσότερων γονιδίων που βρίσκονται σε διαφορετικά χρωμοσώματα. Δηλώνει ότι τυχαία μεταβίβαση μητρικής και πατρικής προέλευσης χρωμοσωμάτων κατά τη μείωση δημιουργεί γαμέτες που έχουν διαφορετικούς συνδυασμούς αυτών των γονιδίων.

Στον άνθρωπο οι χαρακτήρες που καθορίζονται από ένα μόνο γονίδιο ακολουθούν Μενδελικό τύπο κληρονομικότητας. Μελετώνται στα γενεαλογικά δένδρα που αποτελούν απεικόνιση των μελών μιας οικογένειας και των μεταξύ τους συγγενικών σχέσεων και εμφανίζουν τον τρόπο κληρονόμησης ενός χαρακτήρα. Ένας χαρακτήρας που κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τρόπο μπορεί να επηρεάσει αρσενικά και θηλυκά άτομα και μπορεί να μην εμφανιστεί σε μια γενιά. Ένας χαρακτήρας που κληρονομείται με αυτοσωμικό επικρατή τρόπο επηρεάζει αρσενικά και θηλυκά άτομα και εμφανίζεται σε κάθε γενιά. Ένα γονίδιο που υπάρχει στο Χ χρωμόσωμα και δεν έχει αλληλόμορφο στο Υ ονομάζεται φυλοσύνδετο. Ένας φυλοσύνδετος υπολειπόμενος χαρακτήρας εμφανίζεται σε όλα τα αρσενικά άτομα που τον φέρουν, ενώ τα θηλυκά άτομα που είναι φορείς δεν τον εκφράζουν. Μια μητέρα φορέας μπορεί να γεννήσει αγόρια που εμφανίζουν το χαρακτήρα.

Ερωτήσεις

1. Συμπληρώστε με τις κατάλληλες λέξεις τα κενά στο κείμενο:
Τα γονίδια που βρίσκονται στην ίδια γενετική θέση των ομολόγων χρωμοσωμάτων και ελέγχουν την ίδια ιδιότητα ονομάζονται ..... Ένα άτομο που έχει ίδια ..... γονίδια για μια συγκεκριμένη ιδιότητα ονομάζεται ..... ενώ αν έχει δύο διαφορετικά ονομάζεται ..... Ένα ..... γονίδιο καλύπτει την έκφραση του υπολειπόμενου. Το σύνολο των αλληλομόρφων γονιδίων ενός οργανισμού αναφέρεται ως .....

2. Δείξτε σε μία διασταύρωση την αρχή της ανεξάρτητης μεταβίβασης των γονιδίων. Αναλύστε τον τρόπο με τον οποίο διαχωρίζονται τα γονίδια και μεταβιβάζονται στους απογόνους.

3. Ένας καφέ ποντικός διασταυρώνεται πολλές φορές με ένα λευκό ποντικό και όλοι οι απόγονοί του είναι καφέ. α. Εάν διασταυρωθούν δύο από τους καφέ απογόνους της F_1, ποιο ποσοστό από τους ποντικούς της F_2 γενιάς θα είναι καφέ; β. Πώς μπορείτε να διαπιστώσετε εάν ένας καφέ ποντικός είναι ομόζυγος ή ετερόζυγος;

4. Εάν όλοι οι απόγονοι από τη διασταύρωση μιας λευκής κότας και ενός μαύρου κόκκορα είναι γκρίζοι, τι θα είναι τα γονίδια που καθορίζουν το χρώμα;
α. φυλοσύνδετα
β. ατελώς επικρατή
γ. συνεπικρατή.

5. Ένας άνδρας είναι φορέας δρεπανοκυτταρικής αναιμίας (Δδ). Πού βρίσκονται τα αλληλόμορφα γονίδια, που παριστώνται με τα γράμματα Δ και δ;
α. στα Χ και Υ χρωμοσώματα
β. σε ομόλογα χρωμοσώματα
γ. σε όλα τα σπερματοζωάρια του άνδρα υπάρχουν και τα δύο γονίδια
δ. στο ίδιο χρωμόσωμα.

6. Τι φαινότυπο θα έχουν τα παιδιά ενός άνδρα που έχει ομάδα αίματος Β και μιας γυναίκας που έχει ομάδα αίματος Α;
α. μόνο Α ή μονο Β
β. μόνο ΑΒ
γ. ΑΒ ή 0
δ. Α, Β ή 0
ε. Α, Β, ΑΒ ή 0

7. Αντιστοιχίστε τους όρους της στήλης Α με τις προτάσεις της στήλης Β:

Α	Β
1. Αυτοσωμική επικρατής κληρονομικότητα	α. Ένα παιδί έχει 25% πιθανότητα να πάσχει από μια ασθένεια, όταν και οι δύο γονείς είναι φορείς της ίδιας ασθένειας.
2. Αυτοσωμική υπολειπόμενη κληρονομικότητα	β. Μια γυναίκα φορέας μιας ασθένειας παντρεύεται ένα φυσιολογικό άνδρα και αποκτούν ένα αγόρι που πάσχει από την ασθένεια.
3. Φυλοσύνδετη κληρονομικότητα	γ. Δύο πάσχοντες μπορούν να αποκτήσουν υγιές παιδί.

8. Ο Γιάννης και ο παππούς του, από τη μητέρα, πάσχουν από αιμορροφιλία Α. Ο Γιάννης και η Μαρία έχουν ένα γιο, το Γρηγόρη, και δύο κόρες, τη Χαρά και την Περσεφόνη, που πάσχουν όλοι από αιμορροφιλία. Έχουν επίσης και μια κόρη, την Ελένη, που δεν πάσχει από αιμορροφιλία. (Υποθέτουμε ότι τα θηλυκά άτομα με αιμορροφιλία επιζούν, κάτι που δε συμβαίνει στην πραγματικότητα).
α. Σχεδιάστε το γενεαλογικό δένδρο.
β. Γιατί η Χαρά και η Περσεφόνη πάσχουν;
γ. Ποια η πιθανότητα ένας γιος της Χαράς να είναι αιμορροφιλικός;
δ. Ποια η πιθανότητα ένας γιος της Ελένης να είναι αιμορροφιλικός;
ε. Ποια η πιθανότητα μια κόρη της Ελένης να είναι αιμορροφιλική;

9. Υπάρχει περίπτωση σε μια διασταύρωση διυβριδισμού η φαινοτυπική αναλογία των απογόνων στην F_2 να είναι διαφορετική από την αναλογία 9:3:3:1; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.

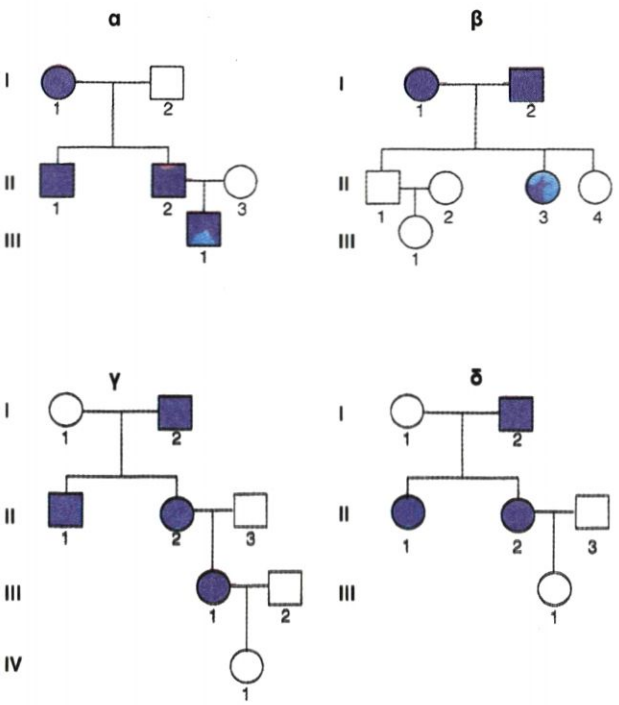
10. Εξηγήστε για ποιο λόγο η μερική αχρωματοψία εμφανίζεται συχνότερα στους άνδρες παρά στις γυναίκες.

11. Ο Δημοσθένης και η Ευτέρπη είναι υγιείς, αλλά ξέρουν ότι είναι φορείς μιας αυτοσωμικής υπολειπόμενης ασθένειας. Εάν τα τρία πρώτα τους παιδιά είναι υγιή, ποια είναι η πιθανότητα το τέταρτο παιδί τους να κληρονομήσει την ασθένεια;

12. Από γονείς με ομάδα αίματος Β και κανονική όραση γεννήθηκε παιδί με ομάδα αίματος 0 και μερική αχρωματοψία. Να βρεθούν οι γονότυποι του πατέρα, της μητέρας και του παιδιού.

13. Ζευγάρι υγιών γονέων αποκτά παιδί με κυστική ίνωση, μια αυτοσωμική υπολειπόμενη ασθένεια. Από τη γυναίκα απομακρύνονται ωάρια τα οποία γονιμοποιούνται *in vitro* από το σπέρμα του συζύγου της. Από τα ωάρια που γονιμοποιήθηκαν δημιουργήθηκαν 16 ζυγωτά, τα οποία ελέγχονται για την ύπαρξη του γονιδίου της κυστικής ίνωσης. Σε πόσα από τα ζυγωτά, με βάση τον πρώτο νόμο του Mendel, περιμένετε να υπάρχουν δύο αντίγραφα του γονιδίου για την κυστική ίνωση; Σε πόσα θα υπάρχει ένα αντίγραφο του γονιδίου για την κυστική ίνωση και ένα φυσιολογικό γονίδιο;

14. Η αχονδροπλασία είναι μια μορφή νανισμού. Στα παρακάτω γενεαλαγικά δένδρα μελετάται ο τρόπος κληρονόμησης της ασθένειας αυτής. Ποιος είναι ο πιο πιθανός τύπος κληρονομικότητας για την αχονδροπλασία;

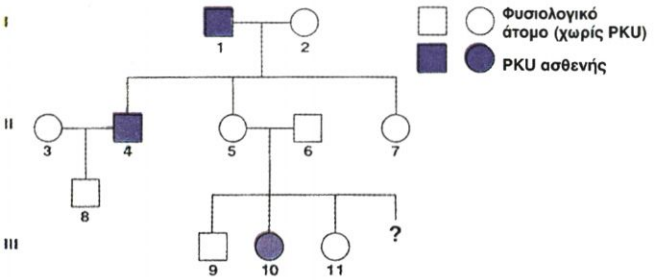


15. Το παρακάτω γενεαλογικό δένδρο αναπαριστά τον τρόπο κληρονόμησης της φαινυλκετονουρίας (PKU) σε μια οικογένεια:

α. Η PKU οφείλεται σε επικρατές ή σε υπολειπόμενο γονίδιο; Κληρονομείται ως αυτοσωμικός ή φυλοσύνδετος χαρακτήρας;

β. Προσδιορίστε τους γονότυπους των μελών της οικογένειας και αιτιολογήστε την απάντησή σας.

γ. Ποια η πιθανότητα ένα τέταρτο παιδί των γονέων 5 και 6 να πάσχει από PKU; Δώστε μια ερμηνεία.



16. Ο Γιώργος έχει διπλή σειρά βλεφαρίδων στα μάτια του (αυτοσωμικός επικρατής χαρακτήρας) που κληρονόμησε από τη μητέρα του. Ο πατέρας της μητέρας του είναι ο μοναδικός συγγενής της που εμφανίζει αυτό το χαρακτήρα. Ο Γιώργος παντρεύτηκε μία γυναίκα με φυσιολογικές βλεφαρίδες. Το πρώτο τους παιδί έχει φυσιολογικές βλεφαρίδες. Ποια είναι η πιθανότητα το επόμενο να εμφανίζει διπλές βλεφαρίδες; Σχεδιάστε το γενεαλογικό δένδρο της οικογένειας.

17. Στο 1ο ζευγάρι ομόλογων χρωμοσωμάτων του ανθρώπου μπορεί να εδράζεται το υπολειπόμενο αλληλόμορφο που είναι υπεύθυνο για μια μορφή κώφωσης. Στο 12ο ζευγάρι ομόλογων χρωμοσωμάτων του ανθρώπου μπορεί να εδράζεται το υπολειπόμενο αλληλόμορφο που είναι υπεύθυνο για τη φαινυλκετονουρία. Αν παντρευτεί ένα ζευγάρι ατόμων που είναι ετερόζυγα και για τις δύο γονιδιακές θέσεις να υπολογίσετε τις πιθανότητες:

α. Να γεννηθεί ένα φυσιολογικό παιδί.

β. Να γεννηθεί ένα φυσιολογικό παιδί, ομόζυγο για τη μία γονιδιακή θέση.

γ. Να γεννηθεί ένα φυσιολογικό παιδί, ετερόζυγο και για τις δύο γονιδιακές θέσεις.

δ. Να γεννηθεί ένα παιδί που πάσχει και από τα δύο είδη παθήσεων.

Εργασίες - Δραστηριότητες

1. Στον άνθρωπο η γραμμή τριχοφυΐας, η ύπαρξη ή όχι φακίδων στο πρόσωπο και οι προσκολλημένοι ή ελεύθεροι λοβοί αυτιών κληρονομούνται ως μονογονιδιακοί χαρακτήρες. Μελετήστε τουλάχιστον έναν από αυτούς σε όσο το δυνατόν περισσότερα από τα μέλη της οικογένειάς σας. Με βάση τα στοιχεία που συγκεντρώσατε κατασκευάστε το γενεαλογικό δένδρο για το χαρακτήρα αυτόν. Προσπαθήστε να βγάλετε συμπεράσματα μέσα από το γενεαλογικό δένδρο για τον τρόπο κληρονόμησης των γονιδίων που καθορίζουν τους παραπάνω χαρακτήρες.

2. Στο ακόλουθο πείραμα θα χρησιμοποιήσετε δύο κουτιά με χάντρες. Κάθε κουτί θα αναπαριστά έναν από τους δύο γονείς. Οι χάντρες στο κουτί αντιπροσωπεύουν τους γαμέτες που παράγουν. Το χρώμα της κάθε χάντρας αντιπροσωπεύει το είδος του γαμέτη. Για παράδειγμα, μία κόκκινη χάντρα μπορεί να αντιπροσωπεύει τον γαμέτη με γονότυπο Α, για σκούρο χρώμα μαλλιών και μία με κίτρινο χρώμα τον γαμέτη με γονότυπο α, για ανοικτό χρώμα μαλλιών.

Τοποθετήστε 100 κόκκινες χάντρες στο πρώτο κουτί. Αυτές αντιπροσωπεύουν τους γαμέτες ατόμου που είναι ομόζυγο ΑΑ.

Τοποθετήστε 50 κόκκινες χάντρες και 50 κίτρινες χάντρες στο δεύτερο κουτί. Αυτές αντιπροσωπεύουν τους γαμέτες ατόμου που είναι ετερόζυγο Αα.

Δίχως να βλέπετε τις χάντρες διαλέξτε μία χάντρα από το πρώτο και μία από το δεύτερο κουτί. Σημειώστε τον γονότυπο του ατόμου που προκύπτει από το συνδυασμό τους. Τοποθετήστε τις χάντρες πίσω στα κουτιά.

Επαναλάβατε εκατό φορές.

Δοκιμάστε χρησιμοποιώντας διαφορετικούς γονότυπους όπως Αα και Αα.

Καταγράψτε τα είδη και την αναλογία των γονότυπων που παρήχθησαν κατά τη διασταύρωση. Τι αναλογίες αναμένατε από τη διασταύρωση; Εξηγήστε την απάντησή σας.

Γιατί χρειάζεται να μην βλέπουμε το χρώμα όταν διαλέγουμε τις χάντρες;

Γιατί χρειάζεται να επανατοποθετούμε τις χάντρες στα κουτιά;

Μεταλλάξεις

Ανάλυση χρωμοσωμάτων με τη μέθοδο FISH

κεφάλαιο

6

6. Μεταλλάξεις

Το γενετικό υλικό μπορεί να υποστεί αλλαγές με πολλούς διαφορετικούς τρόπους. Το γεγονός αυτό δεν προκαλεί έκπληξη. Σκεφθείτε με πόσους τρόπους μπορεί να αλλάξουν οι λέξεις που υπάρχουν σ' αυτή τη σελίδα. Οι αλλαγές στην αλληλουχία του DNA, που ονομάζονται **μεταλλάξεις**, δημιουργούν συνήθως ένα διαφορετικό φαινότυπο χωρίς όμως αυτό να είναι πάντοτε απαραίτητο. Αυτό εξαρτάται από τον τρόπο με τον οποίο η αλλαγή επιδρά στο γονιδιακό προϊόν, δηλαδή στην πρωτεΐνη.

Οι γενετιστές κατατάσσουν τις μεταλλάξεις σε δύο μεγάλες κατηγορίες: Τις **γονιδιακές** και τις **χρωμοσωμικές**. Ο τυπικός αυτός διαχωρισμός σχετίζεται με την έκταση της αλλαγής. Αν αυτή αφορά μικρό αριθμό βάσεων, στις οποίες συμβαίνει αντικατάσταση, προσθήκη ή έλλειψη, τότε ονομάζεται γονιδιακή μετάλλαξη. Αν αφορά αλλαγές σε μεγαλύτερο τμήμα του χρωμοσώματος, ονομάζεται χρωμοσωμική ανωμαλία.

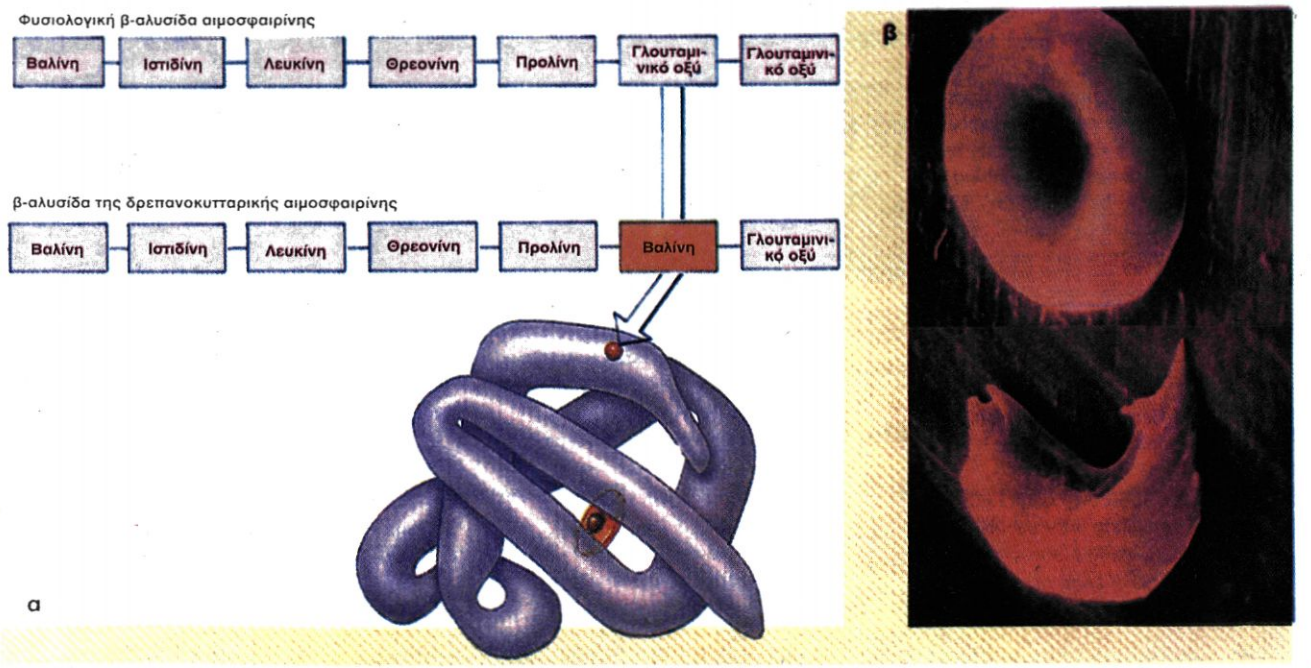
Οι μεταλλάξεις συμβάλλουν στη δημιουργία γενετικής ποικιλότητας στον πληθυσμό και ευθύνονται για πολλές κληρονομικές ασθένειες, καθώς και για πολλές περιπτώσεις καρκίνου. Μεταλλάξεις μπορεί να συμβούν σε οποιοδήποτε γεννητικό ή σωματικό κύτταρο ενός οργανισμού. Μόνο οι μεταλλάξεις των γεννητικών κυττάρων, εν τούτοις, μπορεί να μεταβιβαστούν από τη μια γενιά στην επόμενη. Αυτό όμως δε σημαίνει ότι οι σωματικές μεταλλάξεις είναι λιγότερο σημαντικές για την υγεία. Στην πραγματικότητα αποτελούν την πλειονότητα των μεταλλάξεων, δεδομένου ότι ένας ενήλικος οργανισμός αποτελείται από 10^{13} περίπου σωματικά κύτταρα.

Η μελέτη της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας αποτελεί σταθμό στην κατανόηση των μηχανισμών δημιουργίας των μεταλλάξεων

Η πρώτη γενετική ασθένεια που βρέθηκε ότι είναι αποτέλεσμα συγκεκριμένης γονιδιακής μετάλλαξης ήταν η **δρεπανοκυτταρική αναιμία**. Το 1949, ο Linus Pauling και οι συνεργάτες του ανακάλυψαν ότι η αιμοσφαιρίνη των ενηλίκων, HbA, που αποτελείται από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες, δύο α και δύο β, διέφερε στα φυσιολογικά άτομα σε σχέση με εκείνα που έπασχαν από δρεπανοκυτταρική αναιμία.

Σήμερα γνωρίζουμε ότι η διαφορά εντοπίζεται στο έκτο αμινοξύ της β-πολυπεπτιδικής αλυσίδας, όπου το γλουταμινικό οξύ αντικαθίσταται από βαλίνη. Η μεταλλαγμένη αιμοσφαιρίνη συμβολίζεται ως HbS. Η αλλαγή στην ακολουθία των αμινοξέων είναι αποτέλεσμα μιας γονιδιακής μετάλλαξης στην τριπλέτα που κωδικοποιεί το γλουταμινικό οξύ. Στην κωδική αλυσίδα του DNA δηλαδή, αλλάζει μία βάση και το φυσιολογικό κωδικόνιο GAG, που

Εικόνα 6.1 Η δρεπανοκυτταρική αναιμία δημιουργείται από μια μετάλλαξη του γονιδίου που κωδικοποιεί τη β-πολυπεπτιδική αλυσίδα της αιμοσφαιρίνης. α. Στο μοντέλο του μορίου της αιμοσφαιρίνης φαίνεται η θέση της μετάλλαξης. β. Φυσιολογικό ερυθροκύτταρο, επάνω και δρεπανοειδές ερυθροκύτταρο, κάτω.



κωδικοποιεί το γλουταμινικό οξύ, αντικαθίσταται από το GTG, που κωδικοποιεί τη βαλίνη. Αυτή η μετάλλαξη οδηγεί σε αλλαγή της στερεοδιάταξης της αιμοσφαιρίνης, η οποία έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή της μορφής των ερυθροκυττάρων, τα οποία, σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου, παίρνουν χαρακτηριστικό δρεπανοειδές σχήμα (Εικόνα 6.1). Τα δρεπανοκύτταρα εμποδίζουν τη φυσιολογική κυκλοφορία του αίματος στα τριχοειδή αγγεία δημιουργώντας προβλήματα σε διάφορα όργανα όπως στο σπλήνα και τους πνεύμονες. Τα δρεπανοκύτταρα καταστρέφονται ταχύτερα από τα φυσιολογικά με συνέπεια την εμφάνιση συμπτωμάτων αναιμίας.

Ασθενείς με δρεπανοκυτταρική αναιμία είναι ομόζυγοι για το μεταλλαγμένο γονίδιο που συμβολίζεται με β^S. Τα άτομα αυτά παράγουν μόνο HbS, και καθόλου HbA. Τα ετερόζυγα άτομα (φορείς) έχουν ένα φυσιολογικό β γονίδιο και ένα μεταλλαγμένο και δεν εμφανίζουν τα συμπτώματα της ασθένειας. Στους φορείς προκαλείται δρεπάνωση μόνο σε συνθήκες μεγάλης έλλειψης οξυγόνου, όπως σε υψόμετρο μεγαλύτερο από 3.000 m.

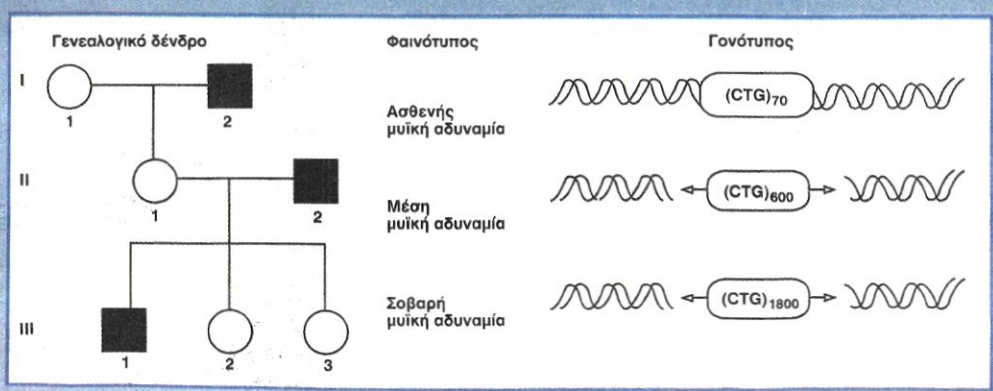
Υπάρχουν πολλοί διαφορετικοί τύποι γονιδιακών μεταλλάξεων

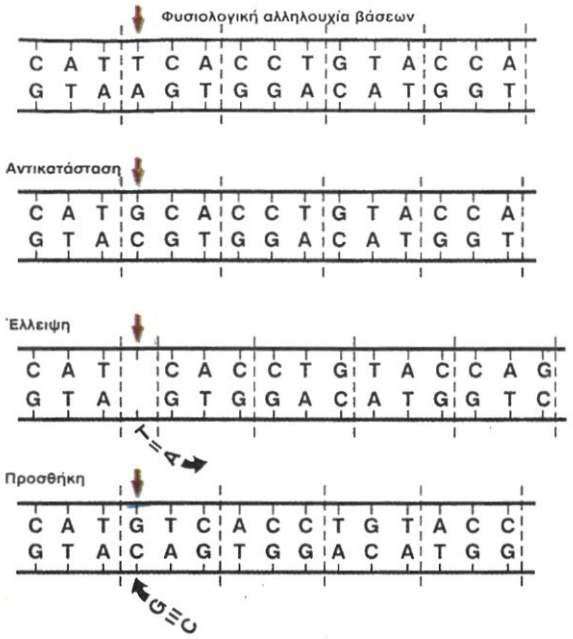
Το παράδειγμα της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας δείχνει ότι μία ασθένεια μπορεί να είναι το αποτέλεσμα αντικατάστασης μίας μόνο από τα δισεκατομμύρια βάσεων DNA! Αλλαγή αυτού του τύπου ονομάζεται **αντικατάσταση βάσης**, και μπορεί να έχει ποικίλα αποτελέσματα στην πρω-

Όταν το γονίδιο «μεγαλώνει» από γενιά σε γενιά

Ένας τύπος μετάλλαξης που ανακαλύφθηκε πρόσφατα είναι η τρινουκλεοτιδική επέκταση, κατά την οποία αυξάνεται ο αριθμός των επαναλήψεων μίας συγκεκριμένης τριπλέτας νουκλεοτιδίων από γενιά σε γενιά. Η τρινουκλεοτιδική επέκταση είναι το αίτιο της μυοτονικής δυστροφίας, μιας αυτοσωμικής επικρατούς μορφής μυϊκής δυστροφίας η οποία εμφανίζεται με σοβαρότερα συμπτώματα από τη μια γενιά στην επόμενη. Για παράδειγμα, ο παππούς μπορεί να εμφανίζει μόνο ήπια αδυναμία στα χέρια. Η κόρη μπορεί να έχει μέτρια αδυναμία σε χέρια και πόδια. Τα παιδιά της, εάν κληρονομήσουν το γονίδιο, μπορεί να εμφανίζεται σοβαρή μυϊκή αδυναμία. Για πολλά χρόνια η αιτιολογία αυτού του φαινομένου ήταν άγνωστη. Εντούτοις, μόλις προσδιορίστηκε η αλληλουχία του γονιδίου, αποκαλύφθηκε ότι η επιδείνωση των συμπτωμάτων οφείλεται στην αύξηση του μεγέθους του γονιδίου. Το γονίδιο που δημιουργεί την ασθένεια βρίσκεται στο χρωμόσωμα 19 και εμφανίζει πολλές επαναλήψεις της τριπλέτας CTG. Ένα φυσιολογικό άτομο έχει 5 έως 37 επαναλήψεις της τριπλέτας, ενώ ένα άτομο που πάσχει εμφανίζει από 50 έως και χιλιάδες επαναλήψεις.

Το σύνδρομο του εύθραυστου X είναι η δεύτερη σε συχνότητα, μετά το σύνδρομο Down, αιτία διανοητικής καθυστέρησης που σχετίζεται με γενετική ανωμαλία. Η ονομασία του οφείλεται στη θραύση, κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες, μικρού τμήματος του χρωμοσώματος X στους πάσχοντες. Ανάλυση του DNA έδειξε ότι το σύνδρομο του εύθραυστου X οφείλεται στο μεγάλο αριθμό επαναλήψεων της τριπλέτας CGG στην αλληλουχία βάσεων του DNA σε ένα συγκεκριμένο γονίδιο (EMR1) του χρωμοσώματος X. Τα φυσιολογικά άτομα έχουν κατά μέσο όρο 30 επαναλήψεις της συγκεκριμένης τριπλέτας. Οι επαναλήψεις της τριπλέτας CGG στα άτομα που πάσχουν ξεκινούν από 200 και ξεπερνούν σε μερικές περιπτώσεις τις 1.300. Τα άτομα που πάσχουν έχουν κληρονομήσει το γονίδιο σε «λανθάνουσα μορφή», δηλαδή από άτομα που δεν πάσχουν αλλά φέρουν 50-200 επαναλήψεις της τριπλέτας CGG στο γονίδιο (προμετάλλαξη). Ο αριθμός των επαναλήψεων της τριπλέτας σε οικογένειες που φέρουν τη μετάλλαξη σε λανθάνουσα μορφή αυξάνεται από γενιά σε γενιά.





Εικόνα 6.2 Οι κύριες κατηγορίες γονιδιακών μεταλλάξεων.

τεΐνη που παράγεται από το αντίστοιχο γονίδιο (Εικόνα 6.2). Στην περίπτωση που η διαφορετική τριπλέτα που προέκυψε κωδικοποιεί το ίδιο αμινοξύ (συνώνυμο κωδικόνιο) δεν αλλάζει η ακολουθία αμινοξέων στην παραγόμενη πρωτεΐνη.

Στις περισσότερες όμως περιπτώσεις, μια αντικατάσταση βάσης δημιουργεί μια τριπλέτα που κωδικοποιεί ένα διαφορετικό αμινοξύ και κατά συνέπεια μια αλλαγμένη πρωτεΐνη. Εάν το διαφορετικό αμινοξύ βρίσκεται στο ενεργό κέντρο ενός ενζύμου ή κοντά σε αυτό, τότε η ενεργότητά του, δηλαδή η ικανότητα κατάλυσης αντιδράσεων, μπορεί να ελαττωθεί ή και να μηδενισθεί. Επίσης, σε άλλα είδη πρωτεϊνών η μετάλλαξη μπορεί να οδηγήσει σε αλλαγή της δομής τους και συνεπώς και της λειτουργίας τους, όπως στην περίπτωση της HbS στη δρεπανοκυτταρική αναιμία. Σε άλλες περιπτώσεις μία αντικατάσταση βάσης μπορεί να μετατρέψει ένα κωδικόνιο, που κωδικοποιεί κάποιο αμινοξύ, σε ένα κωδικόνιο λήξης, με αποτέλεσμα τον τερματισμό σύνθεσης της πολυπεπτιδικής αλυσίδας. Στις περισσότερες από αυτές τις περιπτώσεις καταστρέφεται η λειτουργικότητα της πρωτεΐνης.

Ένας άλλος σημαντικός τύπος γονιδιακών μεταλλάξεων περιλαμβάνει **προσθήκη ή έλλειψη βάσεων** (Εικόνα 6.2). Αλλαγές στον αριθμό των βάσεων έχουν ως αποτέλεσμα την εμφάνιση μεταλλαγμένων φαινοτύπων. Η προσθήκη ή η έλλειψη διαδοχικών βάσεων σε οποιοδήποτε αριθμό πολλαπλάσιο του τρία δημιουργεί, αντίστοιχα, προσθήκη ή έλλειψη ενός ή περισσότερων αμινοξέων στην πολυπεπτιδική αλυσίδα, που μπορεί να αλλάζει τη λειτουργικότητά της. Αν όμως ο αριθμός των βάσεων είναι διαφορετικός του τρία ή πολλαπλασίων του, τότε η αλληλουχία των αμινοξέων δεν εμφανίζει πλέον πολλές ομοιότητες με την αρχική.

Σκεφθείτε
Τι θα δημιουργήσει μεγαλύτερο πρόβλημα στον οργανισμό: Η έλλειψη μίας βάσης ή τριών συνεχόμενων βάσεων;

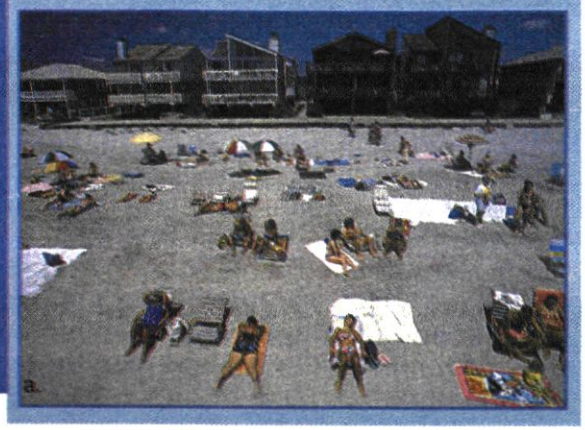
Οι μεταλλάξεις δεν είναι πάντοτε βλαβερές

Μολονότι οι περισσότερες μεταλλάξεις οδηγούν σε αποτέλεσμα που δεν είναι ευνοϊκό για τον οργανισμό, μερικές από αυτές εμφανίζουν πλεονεκτήματα. Χωρίς τις μεταλλάξεις, η γενετική ποικιλότητα θα περιοριζόταν αρκετά και η εξέλιξη, όπως τη γνωρίζουμε σήμερα, δε θα είχε συμβεί.

Οι περισσότερες από τις μεταλλάξεις θεωρούνται επιβλαβείς, επειδή έχουν σοβαρές επιπτώσεις στον οργανισμό. Πολλές όμως δεν είναι επιβλαβείς και χαρακτηρίζονται ως **ουδέτερες**. Για παράδειγμα, μεταλλάξεις που οδηγούν σε αλλαγή ενός μόνο αμινοξέος μπορεί να έχουν ελάχιστη επίδραση στη στερεοδιάταξη και στη λειτουργικότητα της πρωτεΐνης. Οι αλλαγές που συμβαίνουν σ' ένα γονίδιο και δεν οδηγούν σε αλλαγή της αλληλουχίας των αμινοξέων της δημιουργούμενης πρωτεΐνης, λόγω εκφυλισμού του γενετικού κώδικα, ονομάζονται **σιωπηλές μεταλλάξεις**. Αλλαγές στην αλληλουχία των βάσεων παρατηρούνται όχι μόνο σε περιοχές του DNA που μεταγράφονται (γονίδια) αλλά και στις υπόλοιπες.

Ακτινοβολία και μεταλλάξεις
Ο ανθρώπινος πληθυσμός εκτίθεται με πολλούς τρόπους σε ακτινοβολίες π.χ. για ιατρικούς σκοπούς (ακτινοσκοπήσεις, ακτινοθεραπεία) ή για επαγγελματικούς λόγους (ερευνητικά ή πυρηνικά εργαστήρια). Επίσης εκτίθεται στην κοσμική ακτινοβολία, που φθάνει στη Γη από το διάστημα, και στην ακτινοβολία που εκπέμπουν τα ραδιενεργά κοιτάσματα. Κατά περιόδους εκτίθεται σε μεγάλα ποσά ακτινοβολίας που εκλύονται κατά τη διάρκεια δοκιμών ατομικών όπλων και σε πυρηνικά ατυχήματα.

Η υπεριώδης ακτινοβολία περιλαμβάνεται στους μεταλλαξογόνους παράγοντες



Ποιοι παράγοντες προκαλούν μεταλλάξεις

Οι μεταλλάξεις που εμφανίζονται αιφνίδια μέσα στον πληθυσμό ονομάζονται **αυτόματες** και θεωρείται ότι προέρχονται από λάθη που γίνονται κατά την αντιγραφή του DNA ή κατά το διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων.

Όλες οι μεταλλάξεις δε δημιουργούνται αυτόματα. Πολλοί τύποι μεταλλάξεων μπορεί να προκληθούν από παράγοντες του περιβάλλοντος, που ονομάζονται **μεταλλαξογόνοι**. Σ' αυτούς περιλαμβάνονται διάφορες χημικές ουσίες, καθώς και διάφοροι τύποι ακτινοβολιών, όπως η Χ και η γ-ακτινοβολία, καθώς και η κοσμική και η υπεριώδης ακτινοβολία. Μερικές από τις χημικές ουσίες που έχουν μεταλλαξογονο δράση είναι η φορμαλδεΰδη, ορισμένες χρωστικές, αρωματικοί κυκλικοί υδρογονάνθρακες ακόμη και η καφεΐνη. Πολλές από αυτές τις ουσίες βρίσκονται σε γεωργικά, βιομηχανικά και φαρμακευτικά προϊόντα που χρησιμοποιούνται ευρύτατα.

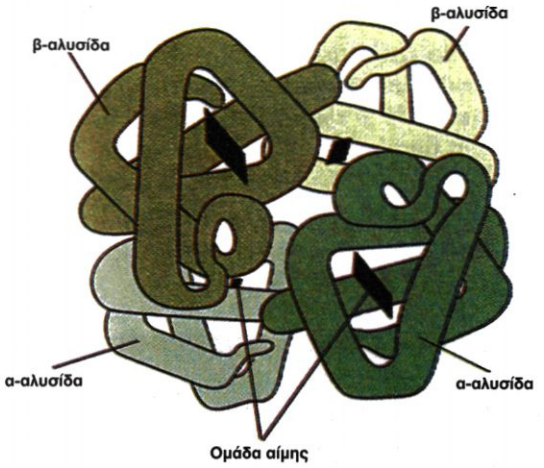
Πώς λοιπόν ένα κύτταρο μπορεί να διατηρήσει σταθερή μια αλληλουχία βάσεων απαραίτητη για τη ζωή υπερπηδώντας αυτές τις αλλαγές που δημιουργούνται από τους διάφορους μεταλλαξογόνους παράγοντες; Η απάντηση είναι ότι τα κύτταρα περιέχουν πάρα πολλά ένζυμα, που αναγνωρίζουν τις βλάβες και επιδορθώνουν το DNA. Περισσότερο από 99.9% των λαθών της αντιγραφής του DNA επιδιορθώνονται με αυτό τον τρόπο. Θα μπορούσαμε λοιπόν να παρομοιάσουμε το κύτταρο με ένα αυτοκίνητο, το οποίο ενώ βρίσκεται διαρκώς σε κίνηση διαθέτει μια ομάδα μηχανικών, που επιδιορθώνει όλες τις βλάβες του, αμέσως μόλις προκύψουν και έτσι το αυτοκίνητο δε σταματά να λειτουργεί φυσιολογικά.

Μεγάλος αριθμός ασθενειών στον άνθρωπο είναι αποτέλεσμα μεταλλάξεων

Στη συνέχεια, αναφέρονται μερικές συχνά εμφανιζόμενες ασθένειες του ανθρώπου, που οφείλονται σε μεταλλάξεις. Οι περισσότερες δεν είναι αποτέλεσμα ενός μόνο τύπου μετάλλαξης. Μπορεί να είναι αποτέλεσμα αντικαταστάσεων, ελλείψεων ή προσθηκών διαφορετικού αριθμού βάσεων. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μεγάλη ετερογένεια των συμπτωμάτων ανάμεσα σε άτομα που πάσχουν από την ίδια ασθένεια.

Η πιο αποτροπιαστική στιγμή στην ιστορία της ανθρωπότητας συνεισφέρει στην επιστημονική έρευνα

Η έκρηξη της ατομικής βόμβας στη Χιροσίμα και το Ναγκασάκι στο τέλος του Δεύτερου Παγκόσμιου Πολέμου, στις 6 και 9 Αυγούστου 1945, έδωσε τη δυνατότητα μελέτης της μεταλλαξογόνου δράσης της ακτινοβολίας. Η έκρηξη αυτή, που σκότωσε 200.000 ανθρώπους σε δευτερόλεπτα, άφησε τα σημάδια της και στις επόμενες γενιές με τη μορφή καρκίνου ή μεταλλάξεων. Η συχνότητα εμφάνισης λευχαιμίας (καρκίνος του αίματος) αυξήθηκε στον πληθυσμό ύστερα από 10 χρόνια, ενώ η συχνότητα εμφάνισης καρκίνου των πνευμόνων ύστερα από 20 χρόνια. Η αύξηση αυτή είναι πιθανά το αποτέλεσμα δράσης της ακτινοβολίας, η οποία αυξάνει τη συχνότητα δημιουργίας μεταλλάξεων στα σωματικά κύτταρα. Οι τελευταίες μπορούν να οδηγήσουν στην εμφάνιση των μορφών καρκίνου που αναφέρθηκαν. Επιπλέον οι ερευνητές υπολόγισαν την αύξηση της συχνότητας μεταλλάξεων σε κάποια γονίδια των κυττάρων του αίματος. Θα χρειαστεί να γίνει μελέτη και σε επόμενες γενιές, για να βρεθεί η επίδραση των υπολειπόμενων μεταλλάξεων, που δημιουργούνται από τη ραδιενεργό ακτινοβολία, εφόσον άτομα φορείς για την ίδια μετάλλαξη θα γεννήσουν παιδιά, κάποια από τα οποία θα είναι ομόζυγα και θα εκφράζουν το φαινότυπο.



Εικόνα 6.3 Το μόριο της αιμοσφαιρίνης, HbA, του ανθρώπου. Αποτελείται από δύο β και δύο α πολυπεπτιδικές αλυσίδες. Στο εσωτερικό του μορίου βρίσκονται τέσσερις ομάδες αίμης. Κάθε μία από αυτές είναι συνδεδεμένη με μία πολυπεπτιδική αλυσίδα.

Γενετικές διαταραχές στις αιμοσφαιρίνες του ανθρώπου

Τα ερυθρά αιμοσφαίρια του ανθρώπου περιέχουν κυρίως μια πρωτεΐνη, την αιμοσφαιρίνη. Κάθε μόριο αιμοσφαιρίνης έχει σφαιρικό σχήμα στο χώρο και αποτελείται από τέσσερις πολυπεπτιδικές αλυσίδες ανά δύο όμοιες, καθεμιά από τις οποίες συνδέεται με μία ομάδα αίμης (Εικόνα 6.3). Οι αιμοσφαιρινες του ενηλίκου ατόμου διαφέρουν από τις αντίστοιχες του εμβρύου. Η κύρια αιμοσφαιρίνη κατά την εμβρυϊκή ηλικία είναι η αιμοσφαιρίνη F (HbF) με σύσταση $\alpha_2\gamma_2$ δηλαδή αποτελείται από δύο πολυπεπτιδικές αλυσίδες α και από δυο γ. Κατά την ενήλικη ζωή η κύρια αιμοσφαιρίνη είναι ή HbA με σύσταση $\alpha_2\beta_2$, ενώ ανιχνεύονται και μικρές ποσότητες μιας άλλης αιμοσφαιρίνης, της HbA_2, με σύσταση $\alpha_2\delta_2$. Τα ενήλικα άτομα επίσης συνθέτουν πολύ μικρή ποσότητα (λιγότερο από 1 %) της HbF.

Τα γονίδια που κωδικοποιούν τις αλυσίδες των αιμοσφαιρινών εμφανίζουν πολλές μεταλλάξεις, που οδηγούν στη δημιουργία αιμοσφαιρινοπαθειών. Στο γονίδιο της πολυπεπτιδικής αλυσίδας β έχουν βρεθεί περισσότερες από 300 διαφορετικές μεταλλάξεις. Εάν μια μετάλλαξη επηρεάζει αμινοξέα σημαντικά για τη λειτουργικότητα της πρωτεΐνης, όπως αυτά που βρίσκονται κοντά στην περιοχή πρόσδεσης της αίμης, τότε δημιουργείται σοβαρό πρόβλημα για τον οργανισμό. Υπάρχουν όμως και μεταλλάξεις που περνούν σχεδόν απαρατήρητες ή που δημιουργούν μόνον ήπια αναιμία. Τέτοιες είναι οι μεταλλάξεις που αφορούν περιοχή της αλυσίδας που δεν είναι σημαντική για τη λειτουργία του μορίου.

Μια από τις σοβαρότερες αιμοσφαιρινοπάθειες είναι η θαλασσαιμία, που οφείλεται σε ελαττωμένη σύνθεση είτε των α είτε των β αλυσίδων και οδηγεί αντίστοιχα σε α- ή β-θαλασσαιμία. Η **β-θαλασσαιμία** χαρακτηρίζεται από μεγάλη ετερογένεια, δηλαδή προκαλείται από πολλά διαφορετικά είδη γονιδιακών μεταλλάξεων όπως αντικαταστάσεις, ελλείψεις και προσθήκες βάσεων. Τα συμπτώματα της ασθένειας διαφέρουν ως προς τη βαρύτητα μεταξύ διαφόρων ατόμων και σχετίζονται με το είδος της μετάλλαξης που τα προκαλεί. Τα συμπτώματα μπορεί να κυμαίνονται από σοβαρή αναιμία (παντελής έλλειψη πολυπεπτιδικής αλυσίδας β, συνεπώς και HbA) έως λιγότερο σοβαρή αναιμία (ελάττωση σύνθεσης πολυπεπτιδικής αλυσίδας β, συνεπώς σύνθεση HbA σε πολύ μικρή ποσότητα).

Τα ομόζυγα άτομα με β-θαλασσαιμία εμφανίζουν σοβαρή αναιμία. Η αντιμετώπιση γίνεται με συχνές μεταγγίσεις αίματος, οι οποίες όμως σταδιακά δημιουργούν πρόβλημα λόγω της υπερφόρτωσης του οργανισμού με σίδηρο. Το πρόβλημα αυτό αντιμετωπίζεται με φαρμακευτική αγωγή (αποσιδήρωση). Στα ομόζυγα άτομα παρατηρείται σε πολλές περιπτώσεις αύξηση της HbF, η οποία υποκαθιστά μερικώς τη λειτουργία της HbA. Τα ετερόζυγα άτομα –φορείς– εμφανίζουν ήπια αναιμία και αυξημένη σύνθεση HbA_2, η οποία αποτελεί διαγνωστικό δείκτη. Η ασθένεια κληρονομείται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας. Συνεπώς, όταν και οι δύο γονείς είναι φορείς της ασθένειας, ο κίνδυνος εμφάνισης της β-θαλασσαιμίας στους απογόνους τους είναι 25%.

Η συχνότητα των ετερόζυγων ατόμων με δρεπανοκυτταρική αναιμία ή β-θαλασσαιμία είναι αυξημένη σε περιοχές όπως οι χώρες της Μεσογείου, της Δυτικής και Ανατολικής Αφρικής και της Ν.Α. Ασίας, όπου εμφανιζόταν ελονοσία. Η αυξημένη συχνότητα οφείλεται στην ανθεκτικότητα των φορέων στην προσβολή από το πλασμώδιο (πρωτόζωο) που προκαλεί την ελονοσία, επειδή τα ερυθροκύτταρά τους δεν ευνοούν τον πολλαπλασιασμό του. Συνεπώς, η προστασία που προσδίδει η μετάλλαξη ως προς την ελονοσία αποτελεί ένα πλεονέκτημα, που τους παρέχει αυξημένη πιθανότητα επιβίωσης και δυνατότητα αναπαραγωγής.

Τα γονίδια που κωδικοποιούν την πολυπεπτιδική αλυσίδα α είναι διπλά, δηλαδή υπάρχουν δύο γονίδια α σε κάθε ομόλογο χρωμόσωμα. Η **α-θαλασσαιμία** είναι αποτέλεσμα, σχεδόν σε όλες τις περιπτώσεις, ελλείψεων ολόκληρου του γονιδίου που κωδικοποιεί την πολυπεπτιδική αλυσίδα α. Εφόσον σε κάθε άτομο υπάρχουν συνολικά τέσσερα γονίδια α, ελλείψεις μπορεί να δημιουργηθούν σε ένα, δύο, τρία, ή και στα τέσσερα από αυτά τα γονίδια. Όσο περισσότερα γονίδια α λείπουν τόσο βαρύτερα είναι τα

συμπτώματα της ασθένειας. Η έλλειψη των γονιδίων α επηρεάζει όλες τις αιμοσφαιρίνες του ανθρώπου που αναφέρθηκαν, επειδή η πολυπεπτιδική αλυσίδα α αποτελεί συστατικό αυτών των αιμοσφαιρινών.

Μεταλλάξεις σε γονίδια που κωδικοποιούν ένζυμα δημιουργούν τις διαταραχές του μεταβολισμού

Οι μεταβολικές οδοί στον άνθρωπο ακολουθούν ορισμένα στάδια, καθένα από τα οποία ελέγχεται από κάποιο ένζυμο. Έχουν περιγραφεί περίπου 200 διαταραχές του μεταβολισμού, οι οποίες αφορούν κυρίως τη λειτουργικότητα ενζύμων. Η δημιουργία μεταλλάξεων σε γονίδια που κωδικοποιούν κάποια από αυτά τα ένζυμα προκαλεί διάφορες κληρονομικές ασθένειες όπως η φαινυλκετονουρία και ο αλφισμός, οι οποίες κληρονομούνται με αυτοσωμικό υπολειπόμενο τύπο κληρονομικότητας.

Ταξίδι στο χρόνο

Το **1956** οι Levan και Tjio βρίσκουν ότι τα διπλοειδή κύτταρα στον άνθρωπο περιέχουν 46 χρωμοσώματα.
Το **1956** οι Hammerton και Ford βρίσκουν ότι οι γαμέτες στον άνθρωπο περιέχουν 23 χρωμοσώματα.
Το **1959** ο Lejeune περιγράφει την πρώτη χρωμοσωμική ανωμαλία, το σύνδρομο Down.

Η **φαινυλκετονουρία (PKU** =Phenyl Keton Urea) είναι μία ασθένεια η οποία προκαλείται από την έλλειψη του ενζύμου που στα φυσιολογικά άτομα μετατρέπει το αμινοξύ φαινυλαλανίνη σε τυροσίνη (Εικόνα 6.4), με αποτέλεσμα τη συσσώρευση φαινυλαλανίνης. Στα άτομα που είναι ομόζυγα για το υπολειπόμενο μεταλλαγμένο γονίδιο παρεμποδίζεται η φυσιολογική ανάπτυξη και λειτουργία των κυττάρων του εγκέφαλου, με συνέπεια τη διανοητική καθυστέρηση. Εάν η ασθένεια ανιχνευθεί νωρίς, κατά τη νεογνική ηλικία, τότε η εφάνιση των συμπτωμάτων που σχετίζονται με αυτήν μπορεί να αποφευχθεί με τη χρησιμοποίηση, εφ' όρου ζωής, κατάλληλου διαιτολογίου με περιορισμένη ποσότητα φαινυλαλανίνης.

Ο **αλφισμός** οφείλεται στην έλλειψη ενός ενζύμου, το οποίο είναι απαραίτητο για το σχηματισμό της χρωστικής μελανίνης. Στα άτομα που πάσχουν από αλφισμό υπάρχει έλλειψη της χρωστικής στο δέρμα, στα μαλλιά και στην ίριδα του οφθαλμού. Ο αλφισμός εμφανίζει ετερογένεια, δηλαδή άλλα άτομα εμφανίζουν παντελή έλλειψη ενεργότητας του ενζύμου, ενώ άλλα εμφανίζουν μειωμένη ενεργότητα.

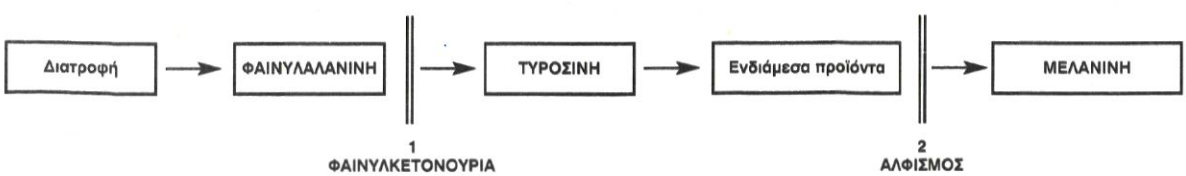
Αυτόματες αποβολές και χρωμοσωμικές μεταλλάξεις

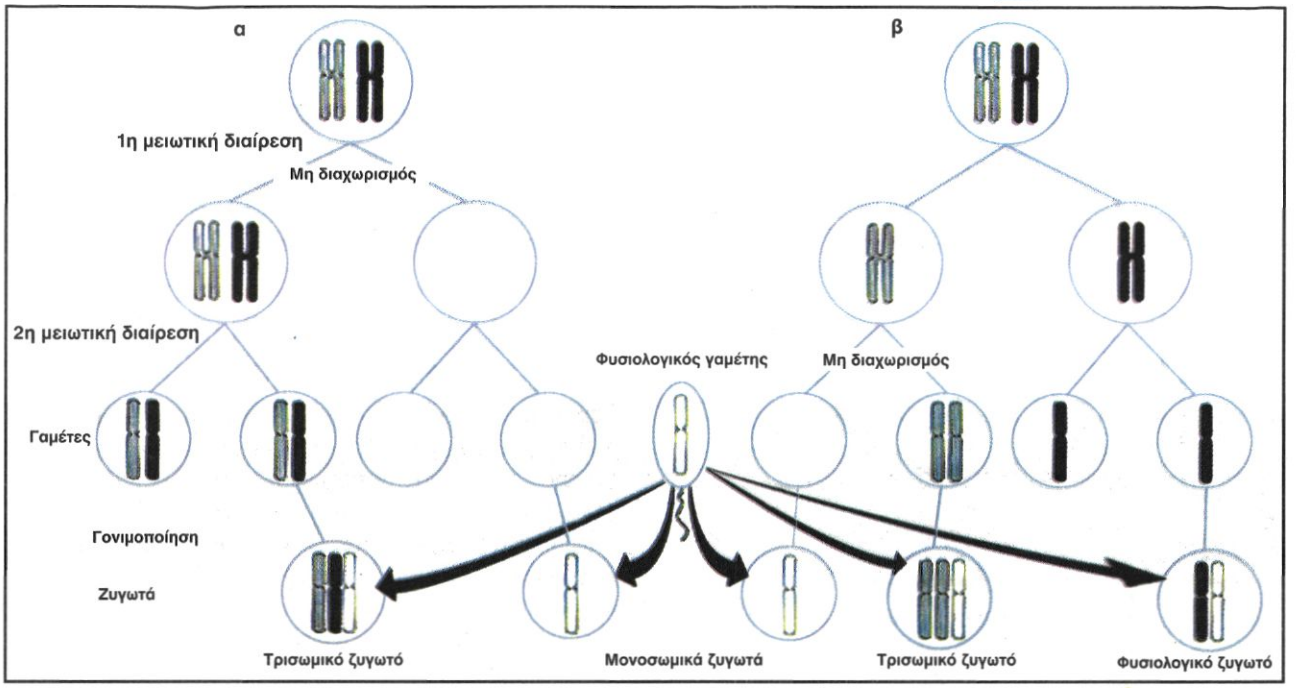
Αυτόματη αποβολή είναι η διακοπή της κύησης πριν από την εικοστή τέταρτη εβδομάδα. Οι περισσότερες αποβολές, περίπου το 75%, συμβαίνουν πριν από την 16η εβδομάδα και παρατηρούνται στο 12% των κυήσεων.
Μελέτες απέδειξαν ότι στο 50% των αποβολών τα έμβρυα έχουν χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Από αυτές σε μεγαλύτερη συχνότητα εμφανίζονται οι τρισωμίες. Είναι φανερό ότι η αυθόρμητη αποβολή του εμβρύου λειτουργεί σαν είδος «αμυντικού μηχανισμού», ο οποίος αποτρέπει τη γέννηση παιδιού που φέρει σημαντικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες.

Χρωμοσωμικές ανωμαλίες

Όπως έχουμε ήδη αναφέρει, οι μεταλλάξεις είναι αλλαγές στην ακολουθία και στον αριθμό των βάσεων στο γονιδίωμα ενός οργανισμού. Οι μεγάλες σε έκταση αλλα-

Εικόνα 6.4 Διάγραμμα στο οποίο φαίνονται τα σημεία όπου υπάρχει «εμπόδιο» που διακόπτει το μεταβολισμό της φαινυλαλανίνης προς μελανίνη στη φαινυλκετονουρία (1) και στον αλφισμό (2). Το εμπόδιο δημιουργείται από έλλειψη των αντιστοίχων ενζύμων που προκαλείται από μεταλλάξεις στα γονίδια που τα κωδικοποιούν.

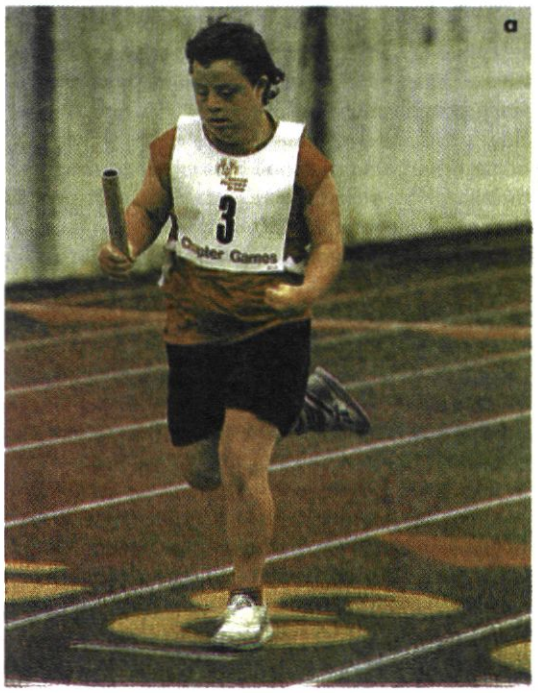


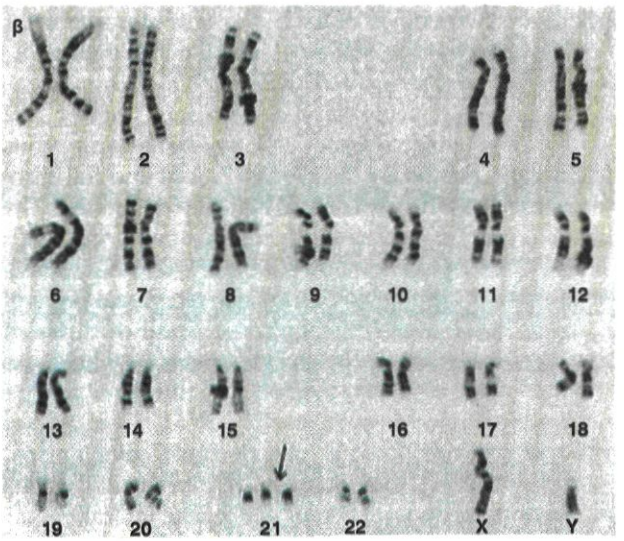


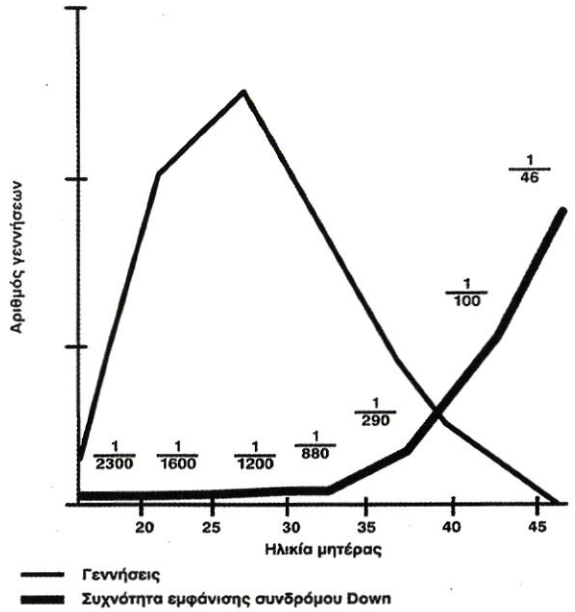
Εικόνα 6.5 Μη διαχωρισμός χρωμοσωμάτων α. κατά τη διάρκεια της 1ης και β. κατά τη διάρκεια της 2ης μειωτικής διαίρεσης. Γονιμοποίηση των μη φυσιολογικών γαμετών, που προκύπτουν, με φυσιολογικό γαμέτη έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ζυγωτών με μη φυσιολογικό αριθμό χρωμοσωμάτων.

γές αποτελούν τις χρωμοσωμικές ανωμαλίες. Η ανάλυση των χρωμοσωμικών ανωμαλιών έγινε δυνατή μετά την ανάπτυξη τεχνικών που επιτρέπουν την παρατήρηση και τη λεπτομερή μελέτη των χρωμοσωμάτων. Οι αλλαγές στον αριθμό των χρωμοσωμάτων ονομάζονται **αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες**, ενώ οι αλλαγές στη δομή αποτελούν τις **δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες**. Οι αλλαγές αυτές έχουν συνήθως ως αποτέλεσμα την τροποποίηση του φαινοτύπου του ατόμου.

Εικόνα 6.6 Τα περισσότερα άτομα με σύνδρομο Down έχουν τρία αντίγραφα του χρωμοσώματος 21.
α. Άτομο με σύνδρομο Down που συμμετέχει στους Special Olympics.
β. Καρυότυπος αρσενικού ατόμου με σύνδρομο Down. Με βελάκι σημειώνεται το επιπλέον χρωμόσωμα 21.







Εικόνα 6.7 Η συχνότητα εμφάνισης του συνδρόμου Down σχετίζεται με την ηλικία της μητέρας.

Οι αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες είναι αποτέλεσμα λαθών στη μειωτική διαίρεση

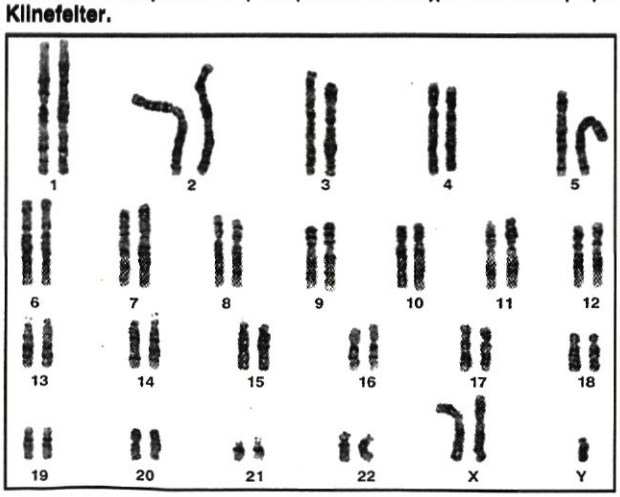
Αν κατά τη διάρκεια της μειωτικής διαίρεσης δεν πραγματοποιηθεί φυσιολογικά ο διαχωρισμός των ομόλογων χρωμοσωμάτων ή των αδελφών χρωματίδων, ένα φαινόμενο που ονομάζεται **μη-διαχωρισμός**, τότε δημιουργούνται γαμέτες με αριθμό χρωμοσωμάτων μεγαλύτερο ή μικρότερο του φυσιολογικού. Η γονιμοποίηση των μη φυσιολογικών γαμετών, που προκύπτουν, με φυσιολογικό γαμέτη έχει ως αποτέλεσμα τη δημιουργία ζυγωτού με «λανθασμένη» ποσότητα γενετικού υλικού, το οποίο δεν αναπτύσσεται φυσιολογικά (Εικόνα 6.5). Τα άτομα που προκύπτουν και έχουν περίσσεια ή έλλειψη μικρού αριθμού χρωμοσωμάτων ονομάζονται **ανευπλοειδή**. Η απουσία ενός μόνο χρωμοσώματος ονομάζεται **μονοσωμία**, ενώ η ύπαρξη ενός επιπλέον **τρισωμία**. Η μονοσωμία είναι συνήθως θανατηφόρος για τον οργανισμό, διότι τα χρωμοσώματα με τα γονίδια που περιέχουν, με εξαίρεση τα φυλετικά, πρέπει να υπάρχουν σε δύο «δόσεις», για να εξασφαλιστεί η σωστή ανάπτυξη του ζυγωτού.

Οι αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες δημιουργούνται στα αυτοσωμικά ή στα φυλετικά χρωμοσώματα. Στη συνέχεια αναφέρονται οι συχνότερα εμφανιζόμενες περιπτώσεις στον άνθρωπο.

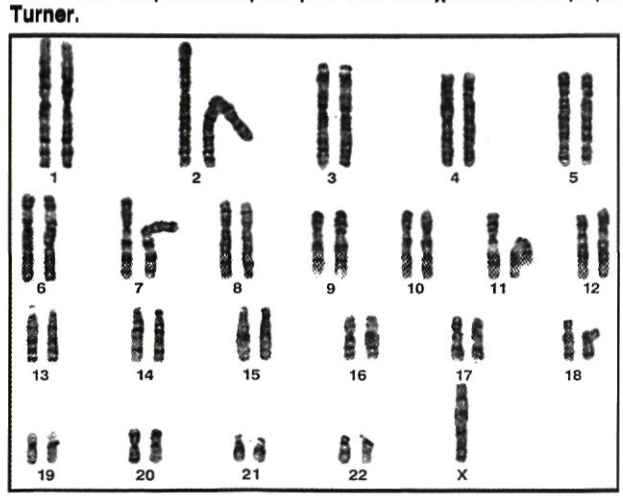
Το **σύνδρομο Down** (Τρισωμία 21) είναι η πιο κοινή αριθμητική χρωμοσωμική ανωμαλία. Τα άτομα με σύνδρομο Down εμφανίζουν καθυστέρηση στην ανάπτυξη, χαρακτηριστικές δυσμορφίες στο πρόσωπο και διανοητική καθυστέρηση. Στον καρυότυπο των ατόμων που πάσχουν, σε όλες σχεδόν τις περιπτώσεις, εμφανίζεται ένα επιπλέον χρωμόσωμα 21 (Εικόνα 6.6). Η ύπαρξη του επιπλέον χρωμοσώματος είναι αποτέλεσμα μη διαχωρισμού των χρωμοσωμάτων του 21ου ζεύγους κατά το σχηματισμό γαμετών στη μείωση. Με αυτό τον τρόπο δημιουργείται ωάριο, και σε σχετικά λιγότερες περιπτώσεις σπερματοζωάριο, με δύο χρωμοσώματα 21. Γονιμοποίηση του γαμέτη που έχει το επιπλέον χρωμόσωμα 21 με ένα φυσιολογικό θα δημιουργήσει στο ζυγωτό τρισωμία 21. Η πιθανότητα γέννησης παιδιού με σύνδρομο Down σχετίζεται με την ηλικία της μητέρας. Μελέτες δείχνουν ότι μια μέλλουσα μητέρα ηλικίας 45 ετών έχει πολύ μεγαλύτερη πιθανότητα να αποκτήσει παιδί με σύνδρομο Down σε σχέση με μια μέλλουσα μητέρα ηλικίας 19 ετών (Εικόνα 6.7).

Άλλες σχετικά συχνές αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες που αφορούν τα αυτοσωμικά χρωμοσώματα είναι η **τρισωμία 13** και η **τρισωμία 18**. Τα άτομα που πάσχουν από αυτές εμφανίζουν βαρύτερα συμπτώματα από εκείνα που πάσχουν από σύνδρομο Down, πιθανόν επειδή τα χρωμοσώματα 13 και 18 είναι μεγαλύτερα σε μέγεθος και περιέχουν περισσότερα γονίδια.

Εικόνα 6.8 Καρυότυπος ατόμου που πάσχει από σύνδρομο Klinefelter.



Εικόνα 6.9 Καρυότυπος ατόμου που πάσχει από σύνδρομο Turner.



Εκτός από αριθμητικές ανωμαλίες που αφορούν τα αυτοσωμικά χρωμοσώματα παρατηρούνται αριθμητικές ανωμαλίες και στα φυλετικά χρωμοσώματα.

Δύο από τα χαρακτηριστικά σύνδρομα αυτής της κατηγορίας είναι το **σύνδρομο Klinefelter** και το **σύνδρομο Turner**. Τα άτομα με σύνδρομο Klinefelter έχουν φυσιολογικό αριθμό αυτοσωμικών χρωμοσωμάτων (44) και τρία φυλετικά χρωμοσώματα, τα XXY, αντί του φυσιολογικού ζεύγους XY (Εικόνα 6.8). Τα άτομα αυτά έχουν εξωτερικά χαρακτηριστικά αρσενικού ατόμου είναι όμως στείρα. Τα χαρακτηριστικά του συνδρόμου εμφανίζονται μετά την εφηβεία.

Τα άτομα που πάσχουν από το **σύνδρομο Turner** έχουν φυσιολογικό αριθμό αυτοσωμικών χρωμοσωμάτων (44) αλλά μόνο ένα χρωμόσωμα X από το ζεύγος των φυλετικών χρωμοσωμάτων (XO) (Εικόνα 6.9). Αυτή είναι η μοναδική μονοσωμία που έχει βρεθεί στον άνθρωπο. Τα άτομα αυτά δεν εμφανίζουν δευτερογενή χαρακτηριστικά του φύλου, παρ' όλο που έχουν φαινότυπο θηλυκού ατόμου, και είναι στείρα.

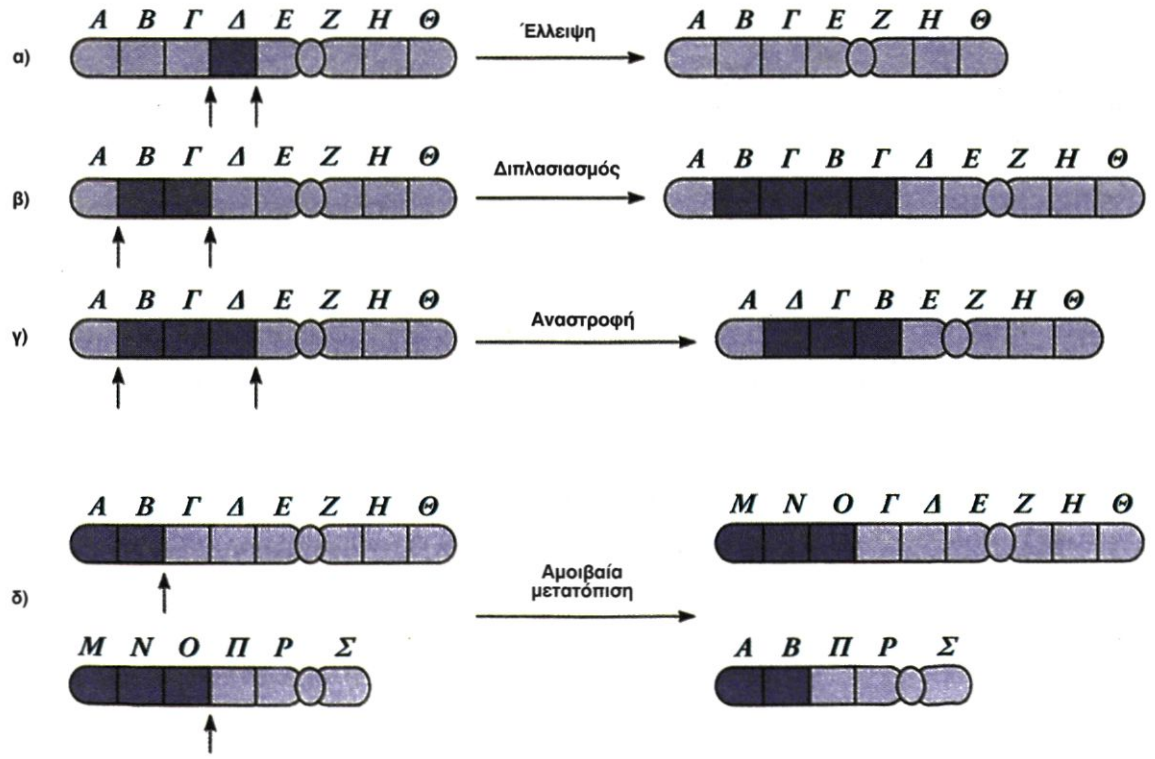
Οι δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες αλλάζουν τη μορφολογία των χρωμοσωμάτων

Οι δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες είναι αλλαγές στη δομή ενός ή περισσότερων χρωμοσωμάτων. Οι δομικές αλλαγές στο χρωμόσωμα μπορεί να αφορούν μερικά γονίδια ή ένα μεγάλο τμήμα του χρωμοσώματος. Η δημιουργία δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών είναι αποτέλεσμα διάφορων μηχανισμών κατά τη διάρκεια του κυτταρικού κύκλου. Για παράδειγμα, η θραύση τμήματος από ένα ή περισσότερα χρωμοσώματα και, στη συνέχεια, η λανθασμένη επανένωσή του μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα έλλειψη, μετατόπιση ή κάποια άλλη αναδιάταξη των γονιδίων στο χρωμόσωμα. Οι δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες είναι αποτέλεσμα της δράσης μεταλλαξογόνων παραγόντων όπως οι ακτινοβολίες και οι διάφορες χημικές ουσίες.

Οι δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες έχουν ως αποτέλεσμα την αλλαγή στην ποσότητα ή στη διάταξη της γενετικής πληροφορίας στα χρωμοσώματα. Ανάλογα με τον τύπο της αλλαγής διακρίνονται διάφορα είδη δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών (Εικόνα 6.10).

Η **έλλειψη** είναι η απώλεια γενετικού υλικού. Το **σύνδρομο φωνή της γάτας (cri-du-chat)** οφείλεται στην έλλειψη ενός τμήματος από το χρωμόσωμα 5. Το σύνδρομο ονομάζεται έτσι, γιατί το κλάμα των νεογέννητων που πάσχουν μοιάζει με το κλάμα της γάτας (cri-du-chat). Τα άτομα που πάσχουν από το συγκεκριμένο σύνδρομο εμφανίζουν διανοητική καθυστέρηση.

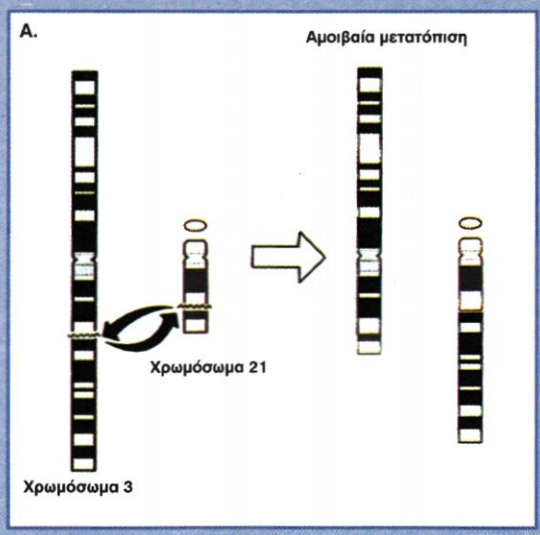
Ο **διπλασιασμός** είναι η επανάληψη ενος χρωμοσωμικού τμήματος στο χρωμόσωμα. Η **αναστροφή** δημιουργείται από θραύσεις σε δύο διαφορετικά σημεία ενός χρωμοσώματος και επανένωση του τμήματος ύστερα από αναστροφή. Η αναστροφή έχει ως συνέπεια την αλλαγή της διάταξης των γονιδίων στο χρωμόσωμα. Τέλος, η **μετατόπιση** είναι αποτέ-

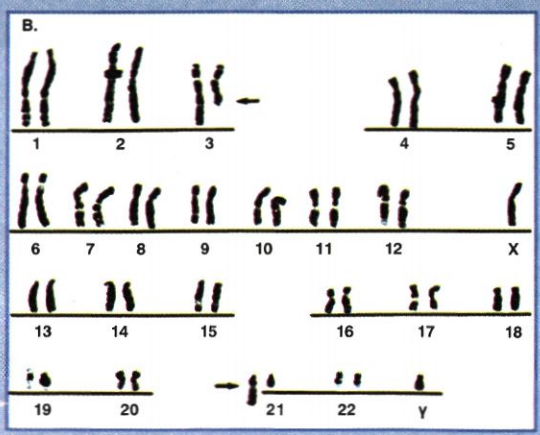


Εικόνα 6.10 Είδη δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών.

Άτομα με σύνδρομο Down και «φυσιολογικό» αριθμό χρωμοσωμάτων

Έχει υπολογιστεί ότι το 4% περίπου των ατόμων που εμφανίζουν τα χαρακτηριστικά του συνδρόμου Down έχουν φυσιολογικό αριθμό χρωμοσωμάτων δηλαδή 46. Η εμφάνιση των χαρακτηριστικών του συνδρόμου Down οφείλεται στην παρουσία «τριών περίπου» αντιγράφων του χρωμοσώματος 21. Τα δύο αντίγραφα στον καρυότυπο αποτελούν το φυσιολογικό ζεύγος των χρωμοσωμάτων. Το επιπλέον αντίγραφο, που είναι συνήθως ο μεγάλος βραχίονας του χρωμοσώματος 21, έχει μετατοπιστεί σε κάποιο άλλο χρωμόσωμα. Τα επιπλέον αντίγραφα των γονιδίων, που εντοπίζονται στο μεγάλο βραχίονα του χρωμοσώματος 21, φαίνεται να ευθύνονται για την εμφάνιση των συμπτωμάτων της συγκεκριμένης ασθένειας.





λεσμα θραύσης ενός τμήματος του χρωμοσώματος και στη συνέχεια ένωσής του σε ένα άλλο μη ομόλογο χρωμόσωμα. Στις αμοιβαίες μετατοπίσεις έχουμε «ανταλλαγή» χρωμοσωμικών τμημάτων ανάμεσα σε μη ομόλογα χρωμοσώματα. Στις αμοιβαίες μετατοπίσεις δε χάνεται γενετικό υλικό και τα άτομα που τις φέρουν εμφανίζουν συνήθως φυσιολογικό φαινότυπο. Ταυτόχρονα όμως εμφανίζουν κίνδυνο απόκτησης απογόνων με χρωμοσωμικές ανωμαλίες, επειδή κατά το ζευγάρωμα των χρωμοσωμάτων στη μειωτική διαίρεση προκύπτουν και μη-φυσιολογικοί γαμέτες. Για τη διαπίστωση των δομικών χρωμοσωμικών ανωμαλιών είναι απαραίτητη η χρώση των χρωμοσωμάτων με τεχνικές που δημιουργούν ζώνες στο χρωμόσωμα, όπως ζώνες Giemsa.

Τα επιτεύγματα της έρευνας στη Γενετική συνεισφέρουν στην ανάπτυξη μεθόδων για τη διάγνωση των γενετικών ασθενειών

Οι γνώσεις που έχουμε αποκτήσει σε μοριακό επίπεδο για τους μηχανισμούς που δημιουργούν τις γενετικές ασθένειες μας έχουν προσφέρει τη δυνατότητα ανάπτυξης μεθόδων με τις οποίες ανιχνεύουμε γενετικές ανωμαλίες στα μέλη μιας οικογένειας ή στα άτομα ενός πληθυσμού. Η διάγνωση των γενετικών ασθενειών μας βοηθά:

- Στον όσο το δυνατόν πιο έγκαιρο εντοπισμό γενετικών ανωμαλιών στα άτομα που εξετάζονται.
- Στον εντοπισμό των φορέων γενετικών ασθενειών.
- Στον προσδιορισμό της πιθανότητας εμφάνισης μιας γενετικής ασθένειας στους απογόνους μιας οικογένειας στην οποία έχει παρουσιαστεί η ασθένεια.

Η έγκαιρη διάγνωση μιας γενετικής ασθένειας προσφέρει τη δυνατότητα σχεδιασμού θεραπευτικής αγωγής, έτσι που να ελαχιστοποιούνται οι επιπλοκές της ασθένειας όπως στην περίπτωση της φαινυλκετονουρίας (PKU). Ο έλεγχος για τον εντοπισμό των πιθανών φορέων, όπως στις περιπτώσεις της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας και των θαλασσαιμιών, πραγματοποιείται με σκοπό τον υπολογισμό της πιθανότητας δημιουργίας απογόνων που πάσχουν από τις συγκεκριμένες κληρονομικές ασθένειες. Ακόμη, στην περίπτωση διάγνωσης γενετικών ανωμαλιών κατά τη διενέργεια του προγεννητικού ελέγχου, δίνεται η δυνατότητα διακοπής της κύησης.

Η διάγνωση των γενετικών ασθενειών μπορεί να πραγματοποιηθεί (Πίνακας 6.1):

- Με τη μελέτη του καρυοτύπου, όπως για παράδειγμα κατά τον προγεννητικό έλεγχο.
- Με διάφορες βιοχημικές δοκιμασίες.
- Με την ανάλυση της αλληλουχίας των βάσεων του DNA (μοριακή διάγνωση).

Στη συνέχεια αναφέρονται δύο περιπτώσεις εφαρμογής της παραπάνω μεθοδολογίας για τη διάγνωση της φαινυλκετονουρίας και της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας.

Η εφαρμογή προγράμματος ελέγχου των νεογνών για τη φαινυλκετονουρία έχει μειώσει σημαντικά τις περιπτώσεις διανοητικής καθυστέρησης από αυτή την ασθένεια. Ο έλεγχος για τη φαινυλκετονουρία πραγματοποιείται με τον υπολογισμό της συγκέντρωσης της φαινυλαλανίνης στο αίμα των νεογέννητων.

Η δρεπανοκυτταρική αναιμία είναι μία από τις λίγες γενετικές ασθένειες της οποίας ο μηχανισμός δημιουργίας έχει μελετηθεί διεξοδικά. Αυτό μας δίνει τη δυνατότητα διάγνωσης της ασθένειας με τη χρησιμοποίηση πολλών διαφορετικών τεχνικών. Μία από αυτές είναι η παρατήρηση της μορφολογίας των ερυθρών κυττάρων σε συνθήκες έλλειψης οξυγόνου. Στην περίπτωση όπου το άτομο πάσχει, τα ερυθροκύτταρά του παίρνουν δρεπανοειδές σχήμα (δοκιμασία δρεπάνωσης). Για τη διάγνωση της δρεπανοκυτταρικής αναιμίας χρησιμοποιούνται επίσης τεχνικές που επιτρέπουν τον προσδιορισμό της αιμοσφαιρίνης HbS στα ερυθροκύτταρα όπως και τον εντοπισμό του μεταλλαγμένου γονιδίου β^S.

ΠΙΝΑΚΑΣ 6.1: Γενετικές ασθένειες και μέθοδοι με τις οποίες πραγματοποιείται η διάγνωση

Γενετική ασθένεια	Μέθοδος
Σύνδρομο Down (τρισωμία 21)	Ανάλυση καρυοτύπου
Σύνδρομο Klinefelter	Ανάλυση καρυοτύπου
Σύνδρομο Turner	Ανάλυση καρυοτύπου
Σύνδρομο Patau (τρισωμία 13)	Ανάλυση καρυοτύπου
Σύνδρομο Edwards (τρισωμία 18)	Ανάλυση καρυοτύπου
Ρετινοβλάστωμα	Ανάλυση καρυοτύπου
Φαινυλκετονουρία	Βιοχημικές μέθοδοι
Κυστική ίνωση	Ανάλυση DNA (PCR)
Έλλειψη α_1-αντιθρυψίνης	Ανάλυση DNA (PCR)
Αιμορροφιλία Α	Ανάλυση DNA (PCR)
Αιμορροφιλία Β	Ανάλυση DNA (PCR)
Δρεπανοκυτταρική αναιμία	Ανάλυση DNA (PCR)
β-θαλασσαιμία	Ανάλυση DNA (PCR)
α-θαλασσαιμία	Ανάλυση DNA (PCR)

Η γενετική καθοδήγηση μειώνει τις πιθανότητες απόκτησης απογόνων με γενετικές ανωμαλίες

Η γενετική καθοδήγηση είναι μία διαδικασία κατά την οποία ειδικοί επιστήμονες δίνουν πληροφορίες σε μεμονωμένα άτομα, ζευγάρια και οικογένειες που πάσχουν από κάποια γενετική ασθένεια ή έχουν αυξημένες πιθανότητες να την εμφανίσουν. Οι πληροφορίες αυτές είναι απαραίτητες για τους ενδιαφερόμενους, γιατί τους βοηθούν στη λήψη αποφάσεων, κυρίως σχετικά με την απόκτηση υγιών απογόνων.

Ο ειδικός επιστήμονας είναι σε θέση να συμβουλέψει τους ενδιαφερόμενους, μόνο όταν διαθέτει τα απαραίτητα στοιχεία που του επιτρέπουν να γνωρίζει τη συγκεκριμένη γενετική ασθένεια, τη συχνότητα εμφάνισής της, τον τρόπο με τον οποίο κληρονομείται, τις επιπτώσεις στα άτομα που πάσχουν από αυτή, τους τρόπους αντιμετώπισής της κ.ά. Αν, για παράδειγμα, διαπιστωθεί ότι δύο υποψήφιοι γονείς είναι ετερόζυγοι για το γονίδιο β^S, τότε ο σύμβουλος τους πληροφορεί ότι υπάρχει 25% πιθανότητα να αποκτήσουν παιδί που πάσχει από δρεπανοκυτταρική αναιμία (ομόζυγο για το γονίδιο β^S).

Αν, όπως στο προηγούμενο παράδειγμα, υπάρχει αυξημένη πιθανότητα το έμβρυο να πάσχει από κάποια ανωμαλία, τότε είναι απαραίτητη η διενέργεια προγεννητικού ελέγχου. Με βάση τα αποτελέσματα του προγεννητικού ελέγχου καλούνται οι γονείς να αποφασίσουν, στην περίπτωση που το έμβρυο πάσχει από σοβαρή γενετική ανωμαλία, τη διακοπή της κύησης.

Η απόφαση για διακοπή ή μη της κύησης επηρεάζεται και από άλλες παραμέτρους, που διαφέρουν από κοινωνία σε κοινωνία και μπορεί να σχετίζονται με τις θρησκευτικές αντιλήψεις, ηθικές παραμέτρους κ.ά.

Παρ' ότι γενετική καθοδήγηση μπορεί να ζητήσουν όλοι οι υποψήφιοι γονείς, υπάρχουν ομάδες ατόμων οι οποίες είναι απαραίτητο να απευθυνθούν σε ειδικούς πριν προχωρήσουν στην απόκτηση απογόνων. Σ' αυτές περιλαμβάνονται:

- Άτομα-φορείς γενετικών ασθενειών.
- Άτομα με οικογενειακό ιστορικό γενετικών ασθενειών.
- Γυναίκες ηλικίας 35 ετών και άνω.
- Γυναίκες με πολλαπλές αποβολές.

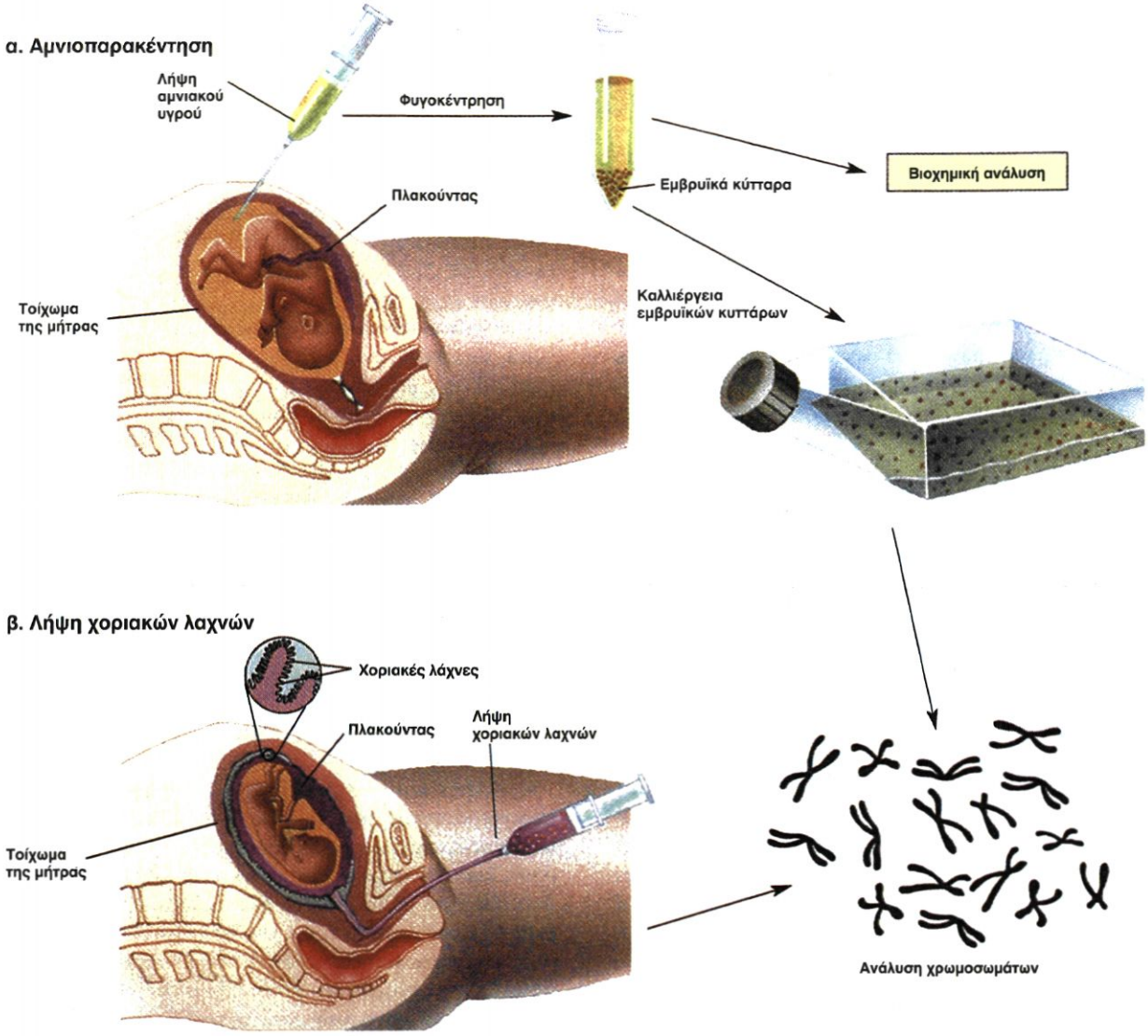
Σκεφθείτε

Για ποιους λόγους νομίζετε ότι οι γυναίκες με πολλαπλές αποβολές πρέπει να καταφεύγουν σε γενετική συμβουλή;

Με τον προγεννητικό έλεγχο μπορούν να εντοπισθούν γενετικές ανωμαλίες στα έμβρυα

Στις περιπτώσεις που υπάρχει αυξημένη πιθανότητα το έμβρυο να εμφανίσει κάποια γενετική ανωμαλία, τότε συνίσταται η διενέργεια προγεννητικού ελέγχου.

Με την **αμνιοπαρακέντηση** λαμβάνεται από τον αμνιακό σάκο, με τη βοήθεια βελόνας, μικρή ποσότητα αμνιακού υγρού. Μέσα σε αυτό βρίσκονται εμβρυϊκά κύτταρα. Τα κύτταρα αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ανάλυση DNA και τη βιοχημική ανάλυση ορισμένων πρωτεϊνών και ενζύμων, όπως στην περίπτωση της φαινυλκετονου-



Εικόνα 6.11 Προγεννητικός έλεγχος:
α. με αμνιοπαρακέντηση ή β. με λήψη χοριακών λαχνών.

ρίας. Επίσης, ύστερα από καλλιέργεια, τα εμβρυϊκά αυτά κύτταρα χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση χρωμοσωμικών ανωμαλιών, με μελέτη του καρυότυπου. (Εικόνα 6.11). Η αμνιοπαρακέντηση πραγματοποιείται από την 12η-16η εβδομάδα της κύησης και αποτελεί έναν ασφαλή και αξιόπιστο τρόπο διάγνωσης των γενετικών ανωμαλιών. Με αμνιοπαρακέντηση μπορεί να ελεγχθεί η ύπαρξη περισσότερων από 100 γενετικών ανωμαλιών (Πίνακας 6.1).

Εναλλακτική μέθοδος προγεννητικού ελέγχου είναι η λήψη χοριακών λαχνών. Πραγματοποιείται συνήθως την 9η-12η εβδομάδα της κύησης και περιλαμβάνει τη λήψη εμβρυϊκών κυττάρων από τις προεκβολές (λάχνες) του χόριου (εμβρυϊκή μεμβράνη που συμμετέχει στο σχηματισμό του πλακούντα) (Εικόνα 6.11). Τα κύτταρα από τις χοριακές λάχνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο για τον έλεγχο των χρωμοσωμάτων (καρυότυπος) όσο και για βιοχημικές αναλύσεις και ανάλυση DNA όπως στη δρεπανοκυτταρική αναιμία.

Η αμνιοπαρακέντηση, σε σχέση με τη λήψη χοριακών λαχνών, μας δίνει τη δυνατότητα παρασκευής χρωμοσωμάτων καλύτερης ποιότητας. Αντίθετα, η λήψη χοριακών λαχνών δίνει τη δυνατότητα πιο έγκαιρης διάγνωσης.

Στην περίπτωση διάγνωσης, με τον προγεννητικό έλεγχο, σοβαρών γενετικών ανωμαλιών είναι δυνατή η διακοπή της κύησης χωρίς να δημιουργεί πρόβλημα υγείας στη μητέρα.

Ο καρκίνος προκαλείται από μεταλλάξεις γονιδίων που ελέγχουν τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό

Ο καρκίνος χαρακτηρίζεται από τον ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό κυττάρων ενός ιστού. Αυτά σχηματίζουν μάζες κυττάρων (καρκινικοί όγκοι) ή μεταναστεύουν στο αίμα όπως στις διάφορες μορφές λευχαιμιών. Αποτελέσμα-

τα μελετών έχουν οδηγήσει στο συμπέρασμα ότι σχεδόν όλες οι περιπτώσεις καρκίνου προέρχονται από μεταλλάξεις γονιδίων σωματικών κυττάρων.

Υπάρχουν δύο τύποι γονιδίων που σχετίζονται με την καρκινογένεση. Τα **ογκογονίδια** και τα **ογκοκατασταλτικά** γονίδια. Σχετικές έρευνες οδηγούν στο συμπέρασμα ότι ο καρκίνος σε γενετικό επίπεδο είναι το αποτέλεσμα:

- Μετατροπής πρωτο-ογκογονιδίων σε ογκογονίδια
- Απουσίας λειτουργικότητας ογκοκατασταλτικών γονιδίων και
- Αδρανοποίησης των μηχανισμών επιδιόρθωσης του DNA.

Τα ογκογονίδια «προέρχονται» από γονίδια που υπάρχουν φυσιολογικά στο ανθρώπινο γονιδίωμα και ονομάζονται **πρωτο-ογκογονίδια**. Για ποιο λόγο όμως το κύτταρο να φέρει γονίδια τα οποία κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες θα οδηγήσουν στην καταστροφή του; Βρέθηκε ότι όλα τα πρωτο-ογκογονίδια έχουν πολύ σημαντικό ρόλο στη φυσιολογική λειτουργία του κυττάρου, ενεργοποιώντας τον κυτταρικό πολλαπλασιασμό, σε περιπτώσεις που αυτός είναι απαραίτητος όπως στην επούλωση τραυμάτων. Όμως διάφορα είδη μεταλλάξεων, που μπορεί να προκληθούν από μεταλλαξογόνους παράγοντες, μετατρέπουν τα πρωτο-ογκογονίδια σε ογκογονίδια, τα οποία υπερλειτουργούν και οδηγούν το κύτταρο σε ανεξέλεγκτο πολλαπλασιασμό και δημιουργία καρκίνου. Η μετατροπή ενός πρωτο-ογκογονιδίου σε ογκογονίδιο μπορεί να είναι το αποτέλεσμα μιας γονιδιακής μετάλλαξης ή μιας χρωμοσωμικής ανωμαλίας, συνηθέστερα μετατόπισης.

Τα ογκοκατασταλτικά γονίδια είναι γονίδια που ελέγχουν την κυτταρική διαίρεση, καταστέλλοντάς την, όποτε είναι απαραίτητο. Η αναστολή της δράσης τους που είναι συνήθως αποτέλεσμα μετάλλαξης, κυρίως έλλειψης γονιδίου, αφαιρεί από το κύτταρο τη δυνατότητα ελέγχου του πολλαπλασιασμού και οδηγεί σε καρκινογένεση. Χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτελεί ο καρκίνος του αμφιβληστροειδούς (ρετινοβλάστωμα) που είναι αποτέλεσμα έλλειψης ενός ογκοκατασταλτικού γονιδίου.

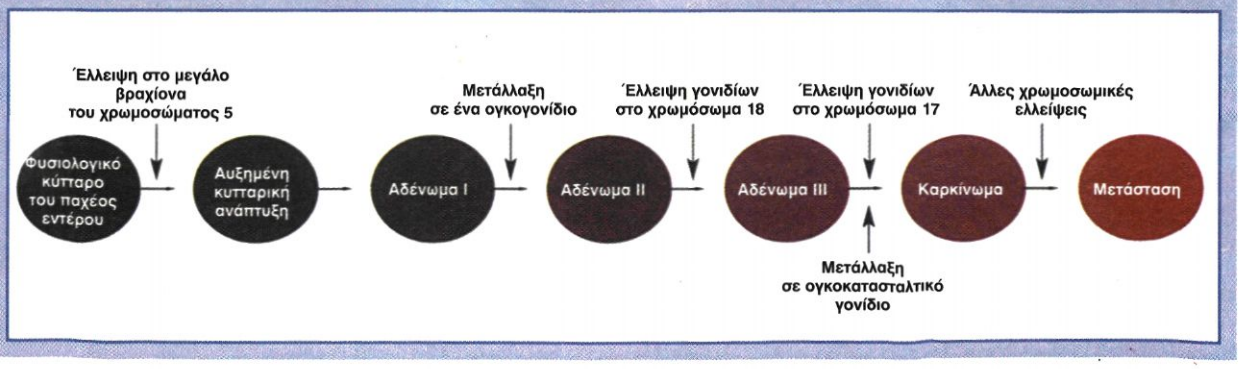
Τέλος, βλάβες στους μηχανισμούς επιδιόρθωσης του DNA έχουν ως αποτέλεσμα την αυξημένη συχνότητα εμφάνισης καρκίνου. Τα άτομα, για παράδειγμα, που πάσχουν από μελαγχρωματική ξηροδερμία εμφανιζουν πολλαπλάσια συχνότητα καρκίνων του δέρματος, κυρίως στις περιοχές που εκτίθενται στην ακτινοβολία του ήλιου, σε σχέση με τα φυσιολογικά άτομα. Είναι γνωστό ότι η ασθένεια δημιουργείται από ανικανότητα επιδιόρθωσης βλαβών που προκαλούνται από την υπεριώδη ακτινοβολία λόγω μετάλλαξης των γονιδίων που κωδικοποιούν τα επιδιορθωτικά ένζυμα.

Όπως έγινε φανερό, ο καρκίνος σχετίζεται με αλλαγές στο γενετικό υλικό. Εντούτοις δεν κληρονομείται ως απλός Μενδελικός χαρακτήρας, αλλά είναι αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης γενετικών και περιβαλλοντικών παραγόντων. Η πολυπλοκότητα της ασθένειας αυτής σχετίζεται με τα παρακάτω αίτια:

- Ο καρκίνος, σε αντίθεση με τις κληρονομικές ασθένειες, όπως η δρεπανοκυτταρική αναιμία, δεν προκαλείται από μία μετάλλαξη, αλλά από τη «συσσώρευση» αρκετών γενετικών αλλαγών στα κύτταρα. Οι μεταλλάξεις αυτές είναι αποτέλεσμα διαφορετικών περιβαλλοντικών μεταλλαξογόνων παραγόντων όπως η ακτινοβολία ή χημικές ουσίες.
- Στη δημιουργία κάθε είδους καρκίνου συμμετέχουν συνήθως τόσο τα ογκογονίδια όσο και τα ογκοκατασταλτικά γονίδια. Για παράδειγμα, στον καρκίνο του παχέος εντέρου βρέθηκε ότι συμμετέχουν αρκετά γονίδια και των δύο τύπων, τα οποία έχουν υποστεί μεταλλάξεις.

Στάδια δημιουργίας καρκίνου του παχέος εντέρου

Περιλαμβάνουν διαδοχική απενεργοποίηση ογκοκατασταλτικών γονιδίων και ενεργοποίηση ογκογονιδίων.



Περίληψη

Μετάλλαξη είναι μια αλλαγή στην αλληλουχία του DNA. Ο αντίστοιχος φαινότυπος ονομάζεται μεταλλαγμένος. Οι μεταλλάξεις προκαλούνται τυχαία ή από μεταλλαξογόνους παράγοντες, που είναι χημικές ουσίες και ακτινοβολίες. Οι μεταλλάξεις μπορεί να είναι γονιδιακές ή χρωμοσωμικές. Όταν η αλλαγή αφορά μικρό αριθμό βάσεων, τότε η μετάλλαξη είναι γονιδιακή. Όταν σχετίζεται με αλλαγές σε μεγαλύτερο τμήμα του χρωμοσώματος, ονομαζεται χρωμοσωμική ανωμαλία. Οι γονιδιακές μεταλλάξεις είναι διαφόρων ειδών. Στην αντικατάσταση βάσης αλλάζει μία μόνο βάση του DNA. Στην προσθήκη ή έλλειψη προστίθενται ή αφαιρούνται αντίστοιχα βάσεις. Η αλλαγή αυτή μπορεί να τροποποιήσει το γονιδιακό προϊόν με δυσμενείς συνέπειες για τον οργανισμό...

Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες αλλάζουν τον αριθμό ή τη δομή των χρωμοσωμάτων. Οι τρισωμίες (ένα επιπλέον χρωμόσωμα) εμφανίζονται συχνότερα από τις μονοσωμίες (έλλειψη ενός χρωμοσώματος) και προκαλούν λιγότερες βλάβες. Οι αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες των φυλετικών χρωμοσωμάτων είναι λιγότερο σοβαρές από αυτές των αυτοσωμάτων. Οι αριθμητικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες δημιουργούνται από μη διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων κατά τη μείωση.

Έλλειψη είναι απώλεια γενετικού υλικού από ένα χρωμόσωμα. Κατά την αμοιβαία μετατόπιση δύο μη ομόλογα χρωμοσώματα ανταλλάσουν τμήματα. Αναστροφή είναι η λανθασμένη τοποθέτηση τμήματος χρωμοσώματος το οποίο έχει κοπεί και έχει τοποθετηθεί ύστερα από στροφή 180 μοιρών. Οι χρωμοσωμικές ανωμαλίες μελετώνται με τη δημιουργία του καρυότυπου, που αποτελεί απεικόνιση των χρωμοσωμάτων του ατόμου που μελετάται.

Ερωτήσεις

1. Ένας γενετιστής βρήκε ότι μια μετάλλαξη σε ένα γονίδιο δεν είχε επίδραση στην πολυπεπτιδική αλυσίδα που κωδικοποιείται από αυτό. Σε τι μπορεί να οφείλεται η συγκεκριμένη μετάλλαξη;

α. Σε έλλειψη μίας βάσης.
β. Σε αλλαγή στο κωδικόνιο έναρξης.
γ. Σε προσθήκη μίας βάσης.
δ. Σε έλλειψη ολόκληρου του γονιδίου.
ε. Σε αντικατάσταση μίας βάσης.

2. Η αλληλουχία αμινοξέων: Glu-Cys-Met-Phe-Trp-Asp αποτελεί τμήμα μίας φυσιολογικής πρωτεΐνης. Προσδιορίστε τον τύπο μετάλλαξης, ο οποίος έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή της αλληλουχίας ή του αριθμού των αμινοξέων σε κάθε μία από τις παρακάτω μεταλλαγμένες πρωτεΐνες. (Συμβουλευτείτε τον πίνακα με το γενετικό κώδικα).

Φυσιολογική πρωτεΐνη		Glu - Cys - Met - Phe - Trp - Asp
Μεταλλαγμένη πρωτεΐνη	Α	Glu - Cys - Ile - Phe - Trp - Asp
Μεταλλαγμένη πρωτεΐνη	Β	Glu - Val - Cys - Ser - Gly - Thr
Μεταλλαγμένη πρωτεΐνη	Γ	Glu - Cys - Met - Phe
Μεταλλαγμένη πρωτεΐνη	Δ	Glu - Met - Tyr - Val - Leu - Gly

Ποια είναι η αλληλουχία των αζωτούχων βάσεων της κωδικής αλυσίδας του DNA, η οποία κωδικοποιεί τη συγκεκριμένη αλληλουχία των αμινοξέων στη φυσιολογική πρωτεΐνη;

3. Οι παρακάτω μεταλλαγμένες αιμοσφαιρίνες χαρακτηρίζονται από συγκεκριμένη αντικατάσταση αμινοξέων στην πολυπεπτιδική αλυσίδα. Πώς πραγματοποιήθηκαν οι αλλαγές αυτές; (Συμβουλευτείτε τον πίνακα με το γενετικό κώδικα).

Μεταλλαγμένη αιμοσφαιρίνη	Αλυσίδα αιμοσφαιρίνης	Θέση	Αντικατάσταση αμινοξέος
Hb Hikari	β	61	Λυσίνη → Ασπαραγίνη
Hb I	α	16	Λυσίνη → Γλουταμίνη
Hb D Ibadan	β	87	Θρεονίνη → Λυσίνη
Hb G Philadelphia	α	68	Ασπαραγίνη → Λυσίνη

4. Η αιμοφαιρίνη C (HbC) δημιουργείται από μία μετάλλαξη στη φυσιολογική αιμοσφαιρίνη A (HbA). Στην 6η θέση της β-αλυσίδας της αιμοσφαιρίνης C υπάρχει το αμινοξύ λυσίνη αντί του γλουταμινικού οξέος (HbA). Με ποιο γενετικό μηχανισμό μπορεί να ερμηνευτεί η αντικατάσταση του αμινοξέος; (Συμβουλευτείτε τον πίνακα με το γενετικό κώδικα).

5. Η Constant Spring είναι μια παθολογική ανθρώπινη αιμοσφαιρίνη. Η αλυσίδα α της αιμοσφαιρίνης αυτής αποτελείται από 172 αμινοξέα (η αλυσίδα α της φυσιολογικής αιμοσφαιρίνης έχει 141 αμινοξέα). Στην αιμοσφαιρίνη Constant Spring το 142ο αμινοξύ είναι η γλουταμίνη, ενώ άλλες παραλλαγές της έχουν στη θέση 142 σερίνη ή λυσίνη.

α. Περιγράψτε τον τύπο της αλλαγής η οποία μπορεί να δώσει το φαινότυπο της Constant Spring.
β. Με ποιο τρόπο δημιουργήθηκαν τα αμινοξέα της θέσης 142 στις παραλλαγές της Constant Spring;
γ. Με δεδομένο ότι η ακολουθία των αμινοξέων από τη θέση 143 έως την 172 είναι ίδια και για τις τρεις αυτές παραλλαγές της αιμοσφαιρίνης Constant Spring, τι συμπεράσματα βγαίνουν για το είδος της μετάλλαξης που συνέβη; (Συμβουλευτείτε τον πίνακα με το γενετικό κώδικα).

6. Ποια από τις παρακάτω προτάσεις που αφορούν το φαινόμενο της ανευπλοειδίας είναι λανθασμένη και γιατί:
α. Οφείλεται συνήθως στο μη διαχωρισμό ενός ζεύγους ομολόγων χρωμοσωμάτων κατά τη μείωση.
β. Στα κύτταρα υπάρχει ένα επιπλέον χρωμόσωμα.
γ. Στα κύτταρα υπάρχει ένα λιγότερο χρωμόσωμα.
δ. Στα κύτταρα λείπει τμήμα ενός χρωμοσώματος.

7. Ο παρακάτω πίνακας παρουσιάζει τον αριθμό των χρωμοσωμάτων σε κύτταρα του ανθρώπου. Ποια από τις στήλες Α έως Ε είναι σωστή;

	Α	Β	Γ	Δ	Ε
Ζυγωτό	46	23	46	46	46
Κύτταρο γαμέτης	23	23	46	23	23
Σωματικό κύτταρο ατόμου μονοσωμικού	46	45	45	45	45
Σωματικό κύτταρο ατόμου τρισωμικού	47	47	47	47	24

8. Ποιο θα είναι το αποτέλεσμα στην πρωτεΐνη που παράγεται σε προκαρυωτικό κύτταρο αν στο γονίδιο που την κωδικοποιεί γίνει αντικατάσταση μίας βάσης;

9. Να σχηματίσετε τα σωστά ζευγάρια;

α. Σύνδρομο cri du chat	1. τρισωμία φυλετικών χρωμοσωμάτων
β. Σύνδρομο Klinefelter	2. τρισωμία αυτοσωμικών χρωμοσωμάτων
γ. Σύνδρομο Down	3. μονοσωμία φυλετικών χρωμοσωμάτων
δ. Σύνδρομο Turner	4. έλλειψη

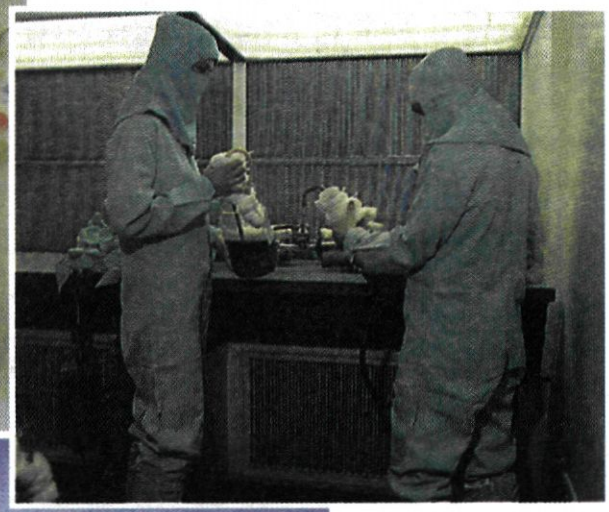
10. Ποιες από τις παρακάτω γενετικές ανωμαλίες μπορούν να ανιχνευθούν με τη βοήθεια του καρυοτύπου; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.
α. Δρεπανοκυτταρική αναιμία
β. Σύνδρομο Klinefelter
γ. Σύνδρομο Down
δ. Φαινυλκετονουρία
ε. β-θαλασσαιμία
στ. Σύνδρομο Turner.

11. Ποιες από τις παρακάτω δομικές χρωμοσωμικές ανωμαλίες έχουν ως αποτέλεσμα την αλλαγή του ποσού της γενετικής πληροφορίας που περιέχεται στο κύτταρο; Να αιτιολογήσετε την απάντησή σας.
α. έλλειψη
β. αναστροφή
γ. διπλασιασμός
δ. αμοιβαία μετατόπιση.

12. Εξαιτίας μιας χρωμοσωμικής μετάλλαξης που συνέβη κατά την παραγωγή των γαμετών, ένα ζευγάρι γέννησε ένα παιδί που στη χρωμοσωμική του σύσταση περιέχονταν 1 Χ και 2 Υ χρωμοσώματα (ΧΥΥ). Να υποδείξετε την πιθανή μετάλλαξη που συνέβη.

13. Από το γάμο δύο υγιών ατόμων γεννήθηκε ένα κορίτσι το οποίο πάσχει από μερική αχρωματοψία. Να υποδείξετε ένα πιθανό μηχανισμό που μπορεί να εξηγήσει τη γέννηση του συγκεκριμένου απογόνου (Να μη ληφθεί υπόψη η περίπτωση γονιδιακής μετάλλαξης).

Αρχές και μεθοδολογία της Βιοτεχνολογίας



κεφάλαιο

7

Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας

7. Αρχές και μεθοδολογία της Βιοτεχνολογίας

Ένα περιστατικό από το άμεσο μέλλον

Στην εντατική κλινική ενός νοσοκομείου ο γιατρός κάνει ένεση με την πρωτεΐνη ενεργοποιητή πλασμινογόνου (tPA) σε έναν ασθενή, ο οποίος μόλις έχει φτάσει με καρδιακό ισχαιμικό επεισόδιο. Μέσα σε λίγα λεπτά ο tPA διαλύει τους θρόμβους που παρεμποδίζουν την κυκλοφορία του αίματος. Στον άνθρωπο αυτή η σημαντική για την κυκλοφορία του αίματος πρωτεΐνη βρίσκεται σε ίχνη. Η πρωτεΐνη που δόθηκε ως φάρμακο στον ασθενή έχει παραχθεί από βακτήρια, έχει όμως την ίδια σύσταση με το δικό του tPA. Εάν δεν είχε αναπτυχθεί αυτή η μεθοδολογία, θα ήταν αδύνατη η χρησιμοποίηση αυτού του φαρμάκου, καθώς οι συμβατικές μέθοδοι δεν επιτρέπουν την παραγωγή του σε μεγάλες ποσότητες. Η παρασκευή τόσο του tPA όσο και των άλλων «φαρμακευτικών» πρωτεϊνών είναι δυνατή λόγω της ανάπτυξης τεχνικών χειρισμού του γενετικού υλικού και της χρησιμοποίησης γενετικά τροποποιημένων οργανισμών.

Η Βιοτεχνολογία προσφέρει τη δυνατότητα χρησιμοποίησης των ζωντανών οργανισμών για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων

Οι ζωντανοί οργανισμοί χρησιμοποιούνται εδώ και χιλιάδες χρόνια για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων. Παλαιότερα χρησιμοποιούνταν κυρίως για την παραγωγή ψωμιού, μπίρας και κρασιού. Σήμερα οι εξελίξεις στην Επιστήμη και στην Τεχνολογία δίνουν τη δυνατότητα χρησιμοποίησης των ζωντανών οργανισμών για την παραγωγή ευρείας κλίμακας προϊόντων όπως τροφίμων, αντιβιοτικών και εμβολίων. Ο όρος Βιοτεχνολογία χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Ούγγρο Kark Ereky το 1919, για να περιγράψει τη «διαδικασία παραγωγής προϊόντων από ακατέργαστα υλικά με τη βοήθεια ζωντανών οργανισμών».

Σήμερα η **Βιοτεχνολογία** αποτελεί συνδυασμό Επιστήμης και Τεχνολογίας, με στόχο την εφαρμογή των γνώσεων που έχουν αποκτηθεί από τη μελέτη των ζωντανών οργανισμών για την παραγωγή σε ευρεία κλίμακα χρήσιμων προϊόντων. Τέτοια προϊόντα είναι, για παράδειγμα, η αλκοόλη, που παράγεται με ζύμωση, και η ανθρώπινη ινσουλίνη, που παράγεται από γενετικά τροποποιημένα βακτήρια. Η Βιοτεχνολογία συνεισφέρει σε διάφορους τομείς όπως είναι η Ιατρική, η γεωργία, η κτηνοτροφία, η βιομηχανία και η προστασία του περιβάλλοντος.

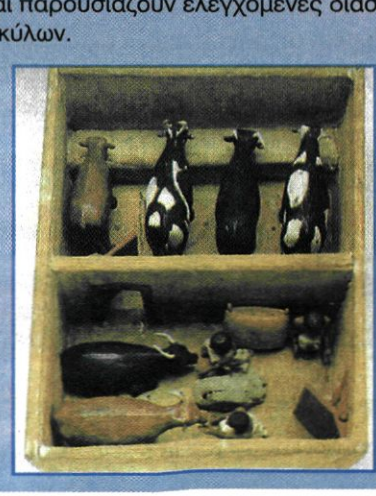
Βιοτεχνολογία με την ευρεία έννοια είναι η χρήση ζωντανών οργανισμών προς όφελος του ανθρώπου.

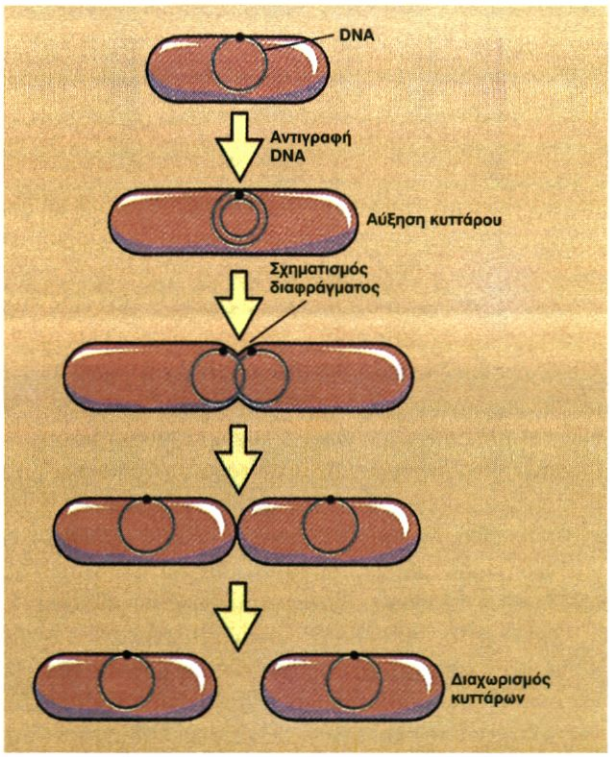
Η Βιοτεχνολογία στηρίζεται κυρίως σε τεχνικές καλλιέργειας και ανάπτυξης των μικροοργανισμών και σε τεχνικές ανασυνδυασμένου DNA. Οι τελευταίες βρίσκουν άμεση εφαρμογή στη Βιοτεχνολογία, επειδή παρέχουν τη δυνατότητα εισαγωγής νέων επιθυμητών ιδιοτήτων στους ζωντανούς οργανισμούς σε μικρότερο χρόνο και με μεγαλύτερη ακρίβεια από ότι στο παρελθόν. Το νέο στη Βιοτεχνολογία είναι όχι οι ιδέες, εφόσον και στο παρελθόν είχαν γίνει προσπάθειες τροποποίησης των ιδιοτήτων των οργανισμών, αλλά οι τεχνικές για την υλοποίησή τους.

Στο κεφάλαιο αυτό θα εξετάσουμε μερικές από τις μεθόδους και εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας. Οι νέες τεχνολογίες, στις οποίες συμπεριλαμβάνεται η Βιοτεχνολογία, αλλάζουν την κοινωνία μας με μεγαλύτερη ταχύτητα από ότι στο παρελθόν, με ανεξέλεγκτα ίσως αποτελέσματα. Αυτό αναπόφευκτα δημιουργεί νέα κοινωνικά και ηθικά διλήμματα, μερικά από τα οποία θα συζητηθούν στο κεφάλαιο της Βιοηθικής.

Η Βιοτεχνολογία μερικές χιλιετίες πριν

Σύμφωνα με ενδείξεις οι Αιγύπτιοι παρήγαγαν μπίρα την 7η χιλιετία π.Χ., ενώ την 4η χιλιετία π.Χ. σε περιοχές της Μεσοποταμίας γινόταν καλλιέργεια της αμπέλου (*Vitis vinifera*) για την παραγωγή κρασιού. Ιστορικές πληροφορίες σχετικά με την ελεγχόμενη εκτροφή ζώων από τον άνθρωπο υπάρχουν σε τοιχογραφίες αιγυπτιακών τάφων, που χρονολογούνται στο 4000 π.Χ. και παρουσιάζουν ελεγχόμενες διασταυρώσεις σκύλων.





Εικόνα 7.1 Διαίρεση προκαρυωτικού κυττάρου.

Οι μικροβιακές καλλιέργειες αποτελούν ένα σημαντικό εργαλείο για τη Βιοτεχνολογία

Οι μικροοργανισμοί όταν βρεθούν σε κατάλληλες συνθήκες, αυξάνονται σε μέγεθος και διαιρούνται με αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού τους. Τα κύτταρα που προκύπτουν μετά από κάθε διαίρεση έχουν πρακτικά το ίδιο μέγεθος με το αρχικό κύτταρο (Εικόνα 7.1). Ο ρυθμός ανάπτυξης ενός πληθυσμού μικροοργανισμών, δηλαδή ο ρυθμός με τον οποίο διαιρούνται τα κύτταρά του, καθορίζεται από το **χρόνο διπλασιασμού** (Πίνακας 7.1). Κάθε είδος μικροοργανισμού έχει χαρακτηριστικό χρόνο διπλασιασμού.

Οι παράγοντες που επηρεάζουν το χρόνο διπλασιασμού και κατά συνέπεια το ρυθμό ανάπτυξης των μικροοργανισμών είναι η διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών, το pH, το O_2 και η θερμοκρασία.

Όπως και όλοι οι υπόλοιποι οργανισμοί, για να αναπτυχθεί ένας μικροοργανισμός είναι απαραίτητο να μπορεί να προμηθεύεται από το περιβάλλον στο οποίο αναπτύσσεται μια σειρά **θρεπτικών συστατικών**. Σ' αυτά περιλαμβάνονται ο άνθρακας, το άζωτο, διάφορα μεταλλικά ιόντα και το νερό. Η πηγή άνθρακα για τους αυτότροφους μικροοργανισμούς είναι το CO_2 της ατμόσφαιρας, ενώ για τους ετερότροφους διάφορες οργανικές ενώσεις όπως οι υδατάνθρακες. Η πηγή αζώτου για τους περισσότερους μικροοργανισμούς είναι τα αμμωνιακά ή τα νιτρικά ιόντα (NO_3^-). Τέλος, τα μεταλλικά ιόντα είναι απαραίτητα για την πραγματοποίηση των χημικών αντιδράσεων στο κύτταρο και ως συστατικά διαφόρων μορίων.

Το **pH** επηρεάζει σημαντικά την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Οι περισσότεροι αναπτύσσονται σε pH 6-9. Υπάρχουν όμως μικροοργανισμοί που αναπτύσσονται σε διαφορετικό pH, όπως είναι τα βακτήρια του γένους *Lactobacillus,* που αναπτύσσονται σε pH 4-5.

Η **παρουσία ή απουσία O_2** μπορεί να βοηθήσει ή να αναστείλει την ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Υπάρχουν μικροοργανισμοί που για την ανάπτυξή τους απαιτούν υψηλή συγκέντρωση O_2 (**υποχρεωτικά αερόβιοι**) όπως τα βακτήρια του γένους *Mycobacterium.* Άλλοι μικροοργανισμοί, όπως οι μύκητες που χρησιμοποιούνται στην αρτοβιομηχανία, ανήκουν στην κατηγορία των μικροοργανισμών που αναπτύσσονται παρουσία O_2 με ταχύτερο ρυθμό απ' ότι απουσία O_2 (**προαιρετικά αερόβιοι**). Τέλος, υπάρχουν μικροοργανισμοί όπως βακτήρια του γένους *Clostridium* για τους οποίους το O_2 είναι τοξικό (**υποχρεωτικά αναερόβιοι**).

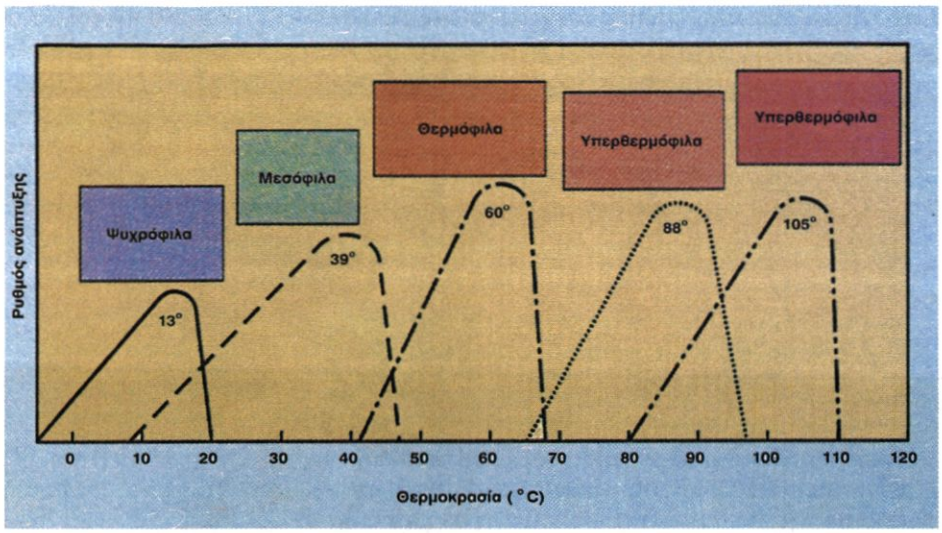
Η **θερμοκρασία** είναι ένας από τους πιο σημαντικούς παράγοντες που καθορίζουν το ρυθμό ανάπτυξης των μικροοργανισμών. Οι περισσότεροι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται άριστα σε θερμοκρασία 20-45°C. Για παράδειγμα, η *Escherichia coli*, που χρησιμοποιείται σε πειράματα Μοριακής Βιολογίας, αναπτύσσεται άριστα σε θερμοκρασία 37°C. Υπάρχουν όμως ορισμένοι που για την ανάπτυξή τους απαιτούν θερμοκρασία μεγαλύτερη από 45°C, όπως αυτοί που αναπτύσσονται κοντά σε θερμοπηγές, και άλλοι που αναπτύσσονται σε θερμοκρασία μικρότερη των 20° C (Εικόνα 7.2).

ΠΙΝΑΚΑΣ 7.1: Χρόνος διπλασιασμού για διάφορα είδη μικροοργανισμών.

Είδος	Χρόνος διπλασιασμού σε ιδανικές συνθήκες
Escherichia coli	20 min
Mycobacterium tuberculosis	18 h
Amoeba proteus	24 h
Saccharomyces cerevisae	2 h

Ένα ένζυμο που του αρέσει η ζέστη

Ο *Thermus aquaticus* είναι ένα θερμόφιλο βακτήριο, το οποίο αναπτύσσεται κοντά σε θερμοπηγές όπου η θερμοκρασία πλησιάζει τους 80° C. Το βακτήριο αυτό χρησιμοποιείται για την παραγωγή μιας DNA πολυμεράσης (Taq πολυμεράση). Το ένζυμο αυτό είναι ενεργό μέχρι τους 95°C. Η ιδιότητά του αυτή το κάνει κατάλληλο για χρήση στην αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR), μιας από τις σύγχρονες τεχνικές της Μοριακής Βιολογίας.

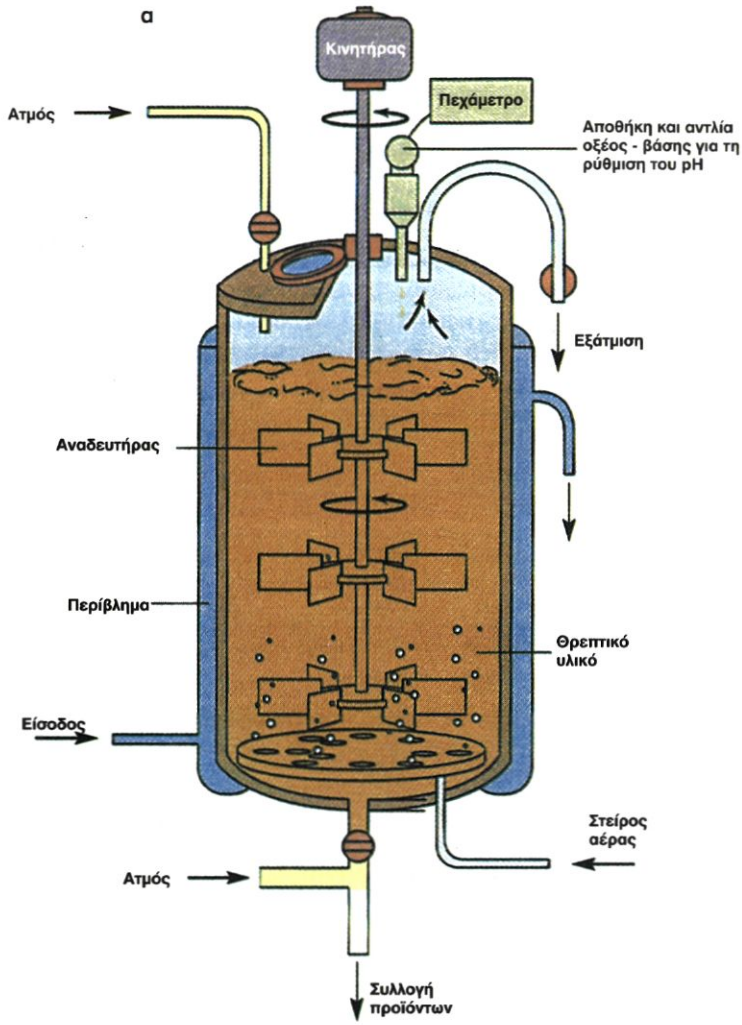


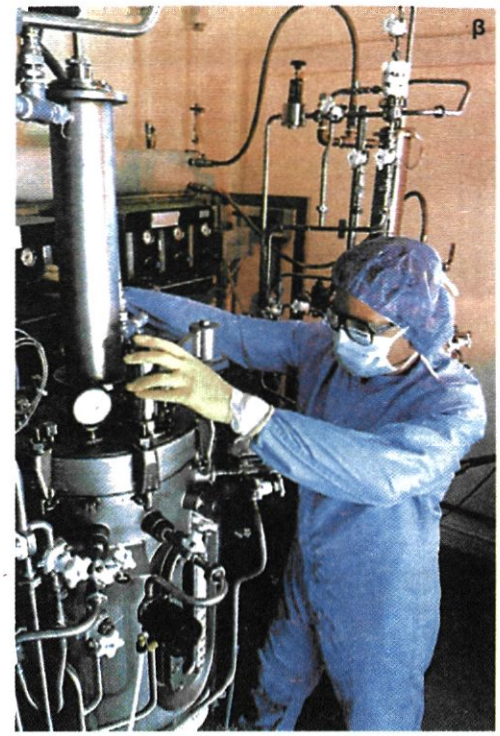
Εικόνα 7.2 Σχέση του ρυθμού ανάπτυξης μικροοργανισμών με τη θερμοκρασία. Αναφέρονται πέντε κατηγορίες μικροοργανισμών που αναπτύσσονται σε διαφορετικές θερμοκρασίες καθώς και η βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης για καθένα από αυτούς.

Οι μικροοργανισμοί μπορούν να αναπτυχθούν στο εργαστήριο και σε βιομηχανική κλίμακα

Οι επιστήμονες είχαν ήδη αρχίσει από τα μέσα του δέκατου ένατου αιώνα τις προσπάθειες για την καλλιέργεια βακτηρίων και μυκήτων. Ο Louis Pasteur στο Παρίσι υπήρξε από τους πρωτοπόρους αυτής της προσπάθειας. Για το σκοπό αυτό ήταν απαραίτητη η απομόνωση αρχικά των διάφορων ειδών βακτηρίων ή μυκήτων, η παρασκευή κατάλληλων θρεπτικών υλικών και η διαμόρφωση κατάλληλων συνθηκών ανάπτυξης. Σήμερα οι μικροοργανισμοί οι οποίοι χρησιμοποιούνται για την παραγωγή χρήσιμων προϊόντων, όπως αντιβιοτικά ή ένζυμα, μπορούν να αναπτυχθούν στο εργαστήριο και σε μεγάλη κλίμακα στις βιομηχανικές μονάδες κάτω από αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες καλλιέργειας. Για την ανάπτυξή τους χρησιμοποιούνται τεχνητά θρεπτικά υλικά. Αυτά πρέπει να περιέχουν πηγή άνθρακα, πηγή αζώτου και ιόντα. Στην περίπτωση αερόβιων μικροοργανισμών, είναι απαραίτητη η παρουσία οξυγόνου. Τα **θρεπτικά υλικά** που χρησιμοποιούνται για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών στο εργαστήριο μπορεί να είναι υγρά ή στερεά. Τα υγρά θρεπτικά υλικά περιέχουν όλα τα θρεπτικά συστατικά που αναφέρθηκαν προηγουμένως διαλυμένα σε νερό. Τα στερεά θρεπτικά υλικά παρασκευάζονται με ανάμιξη του υγρού θρεπτικού υλικού με έναν πολυσακχαρίτη που προέρχεται από φύκη, το **άγαρ**. Το άγαρ είναι ρευστό σε θερμοκρασίες πάνω από 45° C αλλά στερεοποιείται σε μικρότερες θερμοκρασίες. Μία καλλιέργεια ξεκινάει με την προσθήκη μικρής ποσότητας κυττάρων στο θρεπτικό υλικό, μια διαδικασία που ονομάζεται **εμβολιασμός**. Μετά τον εμβολιασμό οι μικροοργανισμοί παραμένουν σε ένα κλίβανο που εξασφαλίζει σταθερή θερμοκρασία κατάλληλη για την ανάπτυξή τους. Με αυτό τον τρόπο σε μικρό χρονικό διάστημα, 12-76 ωρών, παράγεται μεγάλος αριθμός μικροοργανισμών. Οι καλλιέργειες αυτές μπορούν να διατηρηθούν σε αδρανή μορφή στην κατάψυξη (-80°C) για αρκετά μεγάλο χρονικό διάστημα. Για την αποφυγή ανάπτυξης άλλων μικροοργανισμών, εκτός εκείνων που πρόκειται να καλλιεργηθούν, τα θρεπτικά υλικά και οι συσκευές αποστειρώνονται πριν από την έναρξη της καλλιέργειας.

Όταν γίνεται καλλιέργεια μικροοργανισμών σε μεγάλη κλίμακα (βιομηχανική καλλιέργεια) χρησιμοποιούνται κατάλληλες συσκευές που ονομάζονται **ζυμωτήρες ή βιοαντιδραστήρες** (Εικόνα 7.3). Οι βιοαντιδραστήρες επιτρέπουν τον έλεγχο και τη ρύθμιση των συνθηκών (θερμοκρασία, pH, συγκέντρωση O_2) που αφορούν την καλλιέργεια. Στο θρεπτικό υλικό, που προστίθεται στους βιοαντιδραστήρες, χρησιμοποιούνται φθηνές πηγές άνθρακα όπως η μελάσα που αποτελεί παραπροϊόν της επεξεργασίας ζαχαροκάλαμου ή σακχαρότευτλων. Η καλλιέργεια στο βιοαντιδραστήρα ξεκινάει με τον εμβολιασμό από μια αρχική καλλιέργεια μικροοργανισμών που έχει γίνει στο εργαστήριο. Μέσα στο βιοαντιδραστήρα οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται και πολλαπλασιάζονται χρησιμοποιώντας τα συστατικά του θρεπτικού υλικού. Όλες οι διεργασίες πρέπει να γίνονται κάτω από στείρες συνθήκες για να μην γίνει μόλυνση της καλλιέργειας. Ο ίδιος ο βιοαντιδραστήρας και το θρεπτικό υλικό αποστειρώνονται πριν από τη χρήση. Με τον όρο **ζύμωση** εννοούμε τη διαδικασία ανάπτυξης μικροοργανισμών σε υγρό θρεπτικό υλικό κάτω από οποιεσδήποτε συνθήκες. Ο όρος ζύμωση παλαιότερα χρησιμοποιείτο μόνο για αναερόβιες διεργασίες αλλά σήμερα χρησιμοποιείται με την ευρεία έννοια και περιλαμβάνει όλες τις διεργασίες, αερόβιες και αναερόβιες. Τα προϊόντα της ζύμωσης είναι είτε τα ίδια τα κύτταρα που ονομάζονται **βιομάζα** είτε προϊόντα των κυττάρων όπως πρωτεΐνες και αντιβιοτικά.





Εικόνα 7.3 α. Διαγραμματική απεικόνιση βιοαντιδραστήρα, όπου φαίνονται τα διάφορα τμήματά του, καθώς και οι συσκευές ελέγχου των συνθηκών ζύμωσης β. Φωτογραφία βιοαντιδραστήρα.

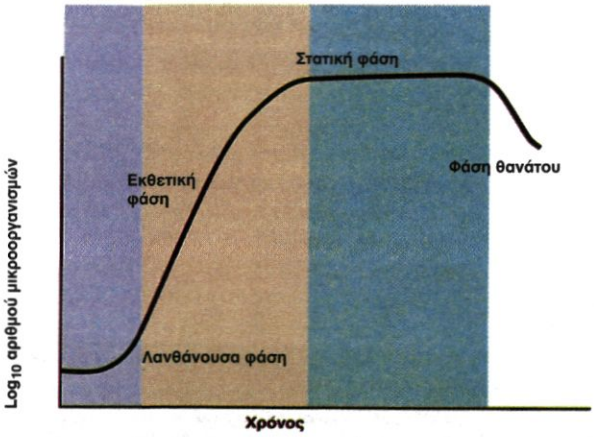
Οι μικροοργανισμοί μπορούν να καλλιεργηθούν με διαφορετικούς τρόπους

Υπάρχουν διάφοροι τύποι ζυμώσεων, οι οποίοι μπορούν να εφαρμοστούν ανάλογα με το επιθυμητό προϊόν. Δύο ευρέως χρησιμοποιούμενοι τύποι είναι η κλειστή και η συνεχής καλλιέργεια.

Κλειστή καλλιέργεια: Σ' αυτό τον τύπο ζύμωσης τοποθετείται στο βιοαντιδραστήρα ορισμένη ποσότητα αποστειρωμένου θρεπτικού υλικού, η οποία εμβολιάζεται με αρχική καλλιέργεια μικροοργανισμών. Η καλλιέργεια συνεχίζεται μέχρι την παραγωγή του επιθυμητού προϊόντος. Στην κλειστή καλλιέργεια οι φάσεις ανάπτυξης των μικροοργανισμών είναι η λανθάνουσα, η εκθετική, η στατική και η φάση θανάτου (Εικόνα 7.4).

Κατά τη **λανθάνουσα φάση** ο πληθυσμός των μικροοργανισμών που προέρχεται από την αρχική καλλιέργεια παραμένει σχεδόν σταθερός. Αυτό οφείλεται στο ότι οι μικροοργανισμοί χρειάζονται κάποιο χρονικό διάστημα για να προσαρμοστούν στις καινούργιες συνθήκες και να αρχίσουν να αναπτύσσονται. Στη συνέχεια, οι μικροοργανισμοί διαιρούνται με ταχύ ρυθμό, επειδή η καλλιέργεια πραγματοποιείται κάτω από άριστες συνθήκες θερμοκρασίας, pH, συγκέντρωσης O_2 και στο υλικό καλλιέργειας υπάρχουν άφθονα θρεπτικά συστατικά. Αυτή η φάση ανάπτυξης ονομάζεται **εκθετική**, επειδή ο αριθμός των μικροοργανισμών αυξάνεται εκθετικά. Ακολουθεί η **στατική**

Η Βιοτεχνολογία με αριθμούς
Καλλιέργεια *Escherichia coli* σε υγρό θρεπτικό υλικό για 12 ώρες στους 37°C παράγει περίπου 10^9 βακτήρια ανά ml καλλιέργειας.



Εικόνα 7.4 Καμπύλη ανάπτυξης μικροοργανισμού σε κλειστή καλλιέργεια.

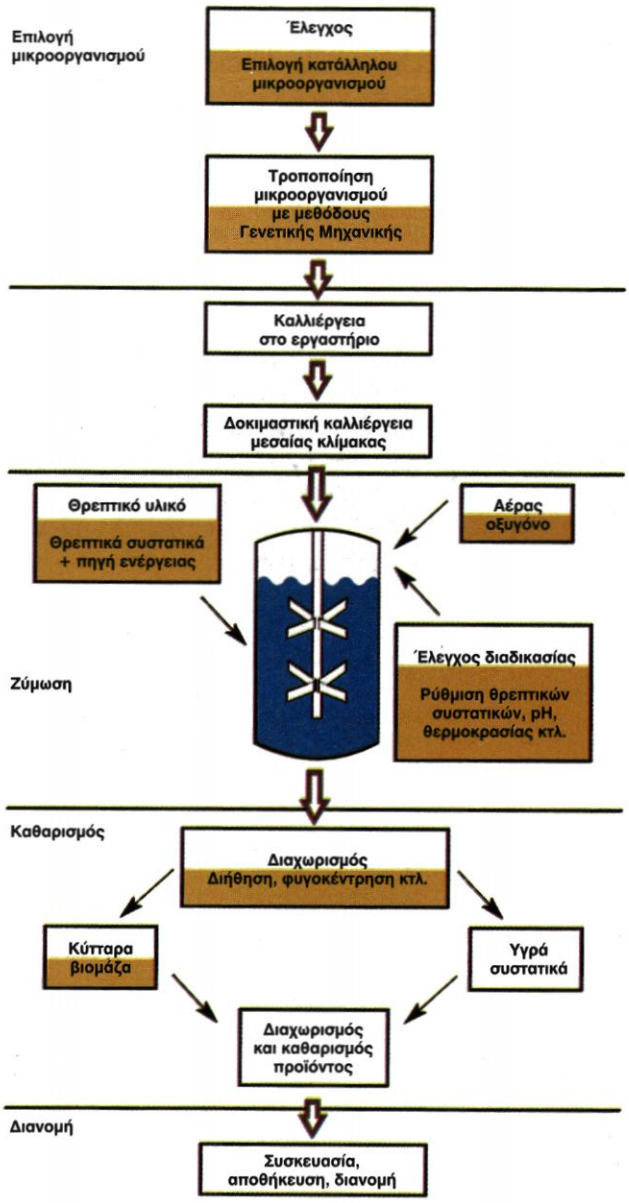
φάση, κατά την οποία ο πληθυσμός των βακτηρίων δεν αυξάνεται, λόγω εξάντλησης κάποιου θρεπτικού συστατικού ή λόγω συσσώρευσης τοξικών προϊόντων από το μεταβολισμό των μικροοργανισμών. Τέλος κατά τη **φάση θανάτου** ο αριθμός των μικροοργανισμών μειώνεται. Παρ' ότι η διαδοχή των φάσεων ανάπτυξης σε κάθε κλειστή καλλιέργεια είναι συγκεκριμένη, η διάρκεια κάθε φάσης διαφέρει ανάλογα με το είδος των μικροοργανισμών. Οι μικροοργανισμοί παράγουν χρήσιμα προϊόντα συνήθως κατά τη διάρκεια της εκθετικής και της στατικής φάσης ανάπτυξής τους.

Συνεχής καλλιέργεια: Σ' αυτό τον τύπο καλλιέργειας οι μικροοργανισμοί τροφοδοτούνται συνεχώς με θρεπτικά συστατικά. Ταυτόχρονα, απομακρύνονται από την καλλιέργεια κύτταρα και άχρηστα προϊόντα.

Η παραλαβή των προϊόντων ζύμωσης απαιτεί τη χρησιμοποίηση σειράς τεχνικών καθαρισμού

Τελική κατεργασία είναι η διεργασία καθαρισμού του προϊόντος που παραλαμβάνεται από το βιοαντιδραστήρα. Αρχικά, γίνεται διαχωρισμός των υγρών από τα στερεά συστατικά, στα οποία συμπεριλαμβάνονται και τα κύτταρα. Αυτό γίνεται συνήθως με διήθηση ή με φυγοκέντρηση. Το επιθυμητό προϊόν μπορεί να περιλαμβάνεται στα στερεά ή υγρά συστατικά, από όπου παραλαμβάνεται με τη χρήση κατάλληλων μεθόδων.

Τα προϊόντα της ζύμωσης μπορούν να αξιοποιηθούν μόνο όταν είναι απόλυτα καθαρά, δηλαδή όταν δεν έχουν προσμείξεις (Εικόνα 7.5).



Εικόνα 7.5 Στάδια παραγωγής προϊόντων με τη χρήση μικροοργανισμών.

Η παραγωγή της πενικιλίνης αποτελεί σημαντικό σταθμό στην πορεία της Βιοτεχνολογίας

Η ανακάλυψη της πενικιλίνης το 1928 από τον Fleming είναι το σημείο αφετηρίας για την αντιμετώπιση μιας σειράς ασθενειών με τη χρήση αντιβιοτικών. Η πενικιλίνη, που άρχισε να χρησιμοποιείται σε ευρεία κλίμακα κατά τη διάρκεια του 2ου Παγκόσμιου Πολέμου, έχει σώσει εκατομμύρια ζωές προσφέροντας προστασία από σοβαρές ασθένειες όπως οι πνευμονικές λοιμώξεις, η βλεννόρροια

και η σύφιλη. Η παραγωγή της πενικιλίνης αποτελεί την πρώτη εφαρμογή μεθόδων Βιοτεχνολογίας με χρησιμοποίηση των μικροοργανισμών για παραγωγή και άλλων προϊόντων εκτός από τρόφιμα και ποτά.

Η πενικιλίνη είναι προϊόν μυκήτων του γένους *Penicillium*. Η παραγωγή της εξαρτάται από το στέλεχος του μύκητα που χρησιμοποιείται, από το θρεπτικό υλικό στο οποίο αναπτύσσεται και από τις συνθήκες καλλιέργειας. Στελέχη τα οποία έχουν επιλεγεί για την υψηλή απόδοσή τους καλλιεργούνται αρχικά στο εργαστήριο σε στερεό θρεπτικό υλικό. Στη συνέχεια, τα στελέχη αυτά χρησιμοποιούνται ως αρχική καλλιέργεια για ανάπτυξη σε βιοαντιδραστήρες. Το θρεπτικό υλικό περιέχει, εκτός των άλλων, και γλυκόζη ως πηγή άνθρακα. Στα αρχικά στάδια της καλλιέργειας (λανθάνουσα και εκθετική φάση), που διαρκούν 30-40 ώρες αυξάνεται η βιομάζα του μύκητα. Στη συνέχεια, προστίθεται γλυκόζη σε χαμηλή συγκέντρωση, σταματάει η ανάπτυξη του μύκητα (στατική φάση) και αρχίζει η παραγωγή της πενικιλίνης. Η καλλιέργεια διαρκεί έως και 15 ημέρες. Για την παραλαβή πενικιλίνης σε καθαρή μορφή χρησιμοποιούνται φυσικές και χημικές μέθοδοι.

Ταξίδι στο χρόνο

1957 Κατά τη διάρκεια μιας επιδημίας δυσεντερίας στην Ιαπωνία ανακαλύπτονται βακτήρια τα οποία παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε μια σειρά αντιβιοτικών. Λίγο αργότερα αποκαλύπτεται ότι η ανθεκτικότητα αυτή οφείλεται σε γονίδια που υπάρχουν στα πλασμίδια.

1970 Απομονώνεται η περιοριστική ένδονουκλεάση του DNA, EcoRI, δηλαδή ένα ένζυμο που υδρολύει (κόβει) το DNA σε συγκεκριμένα σημεία της νουκλεοτιδικής του αλληλουχίας.

1975 Η τεχνολογία των μονοκλωνικών αντισωμάτων κάνει την εμφάνισή της.

1976 Δημιουργείται στο San Fransisco της California η πρώτη ιδιωτική εταιρεία παραγωγής προϊόντων με χρήση τεχνικών ανασυνδυασμένου DNA.

1978 Επιτυγχάνεται η παραγωγή από βακτήρια ανασυνδυασμένης ανθρώπινης σωματοστατίνης, μιας πρωτεΐνης που ρυθμίζει τη δράση των αυξητικών ορμονών.

1980 Ψηφίζεται στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής νόμος ο οποίος επιτρέπει τη μεταφορά τεχνογνωσίας και τεχνολογίας από πανεπιστημιακά και ερευνητικά ιδρύματα σε εμπορικές εταιρείες.

1982 Δίνεται άδεια χρήσης ανασυνδυασμένης ανθρώπινης ινσουλίνης ως φάρμακου για διαβητικούς. Τον ίδιο χρόνο, το πρώτο γενετικά τροποποιημένο φυτό (μια ποικιλία καπνού) απελευθερώνεται στο φυσικό περιβάλλον.

1989 Ξεκινά το Πρόγραμμα Χαρτογράφησης του Ανθρώπινου Γονιδιώματος (HUGO, Human Genome Organization).

1990 Εφαρμόζεται πειραματικά η γονιδιακή θεραπεία σε ένα τετράχρονο κοριτσάκι το οποίο πάσχει από έλλειψη του γονιδίου της απαμινάσης της αδενοσίνης (ADA).

1995 Ολοκληρώνεται η αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας γονιδιώματος ενός βακτηρίου (*Haemophilus influenzae*).

1996 Ολοκληρώνεται η αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας του πρώτου ευκαρυωτικού γονιδιώματος (*Saccharomyces cerevisae*).

1997 Το Ινστιτούτο Roselin της Σκωτίας ανακοινώνει την κλωνοποίηση της προβατίνας Dolly.

1998 Ολοκληρώνεται η αποκρυπτογράφηση της αλληλουχίας του πρώτου γονιδιώματος πολυκύτταρου οργανισμού (*Caenorhabditis elegans*).

Περίληψη

Η Βιοτεχνολογία αποτελεί συνδυασμό επιστήμης και τεχνολογίας με στόχο τη χρησιμοποίηση των ζωντανών οργανισμών για την παραγωγή σε ευρεία κλίμακα χρήσιμων προϊόντων. Στηρίζεται κυρίως σε τεχνικές ανασυνδυασμένου DNA και καλλιέργειας μικροοργανισμών. Οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται κάτω από ελεγχόμενες συνθήκες κατά τις οποίες υπάρχει μια σειρά κατάλληλων θρεπτικών συστατικών. Σε μια καλλιέργεια μεγάλης κλίμακας (βιομηχανική καλλιέργεια) χρησιμοποιούνται κατάλληλες συσκευές, που ονομάζονται βιοαντιδραστήρες.

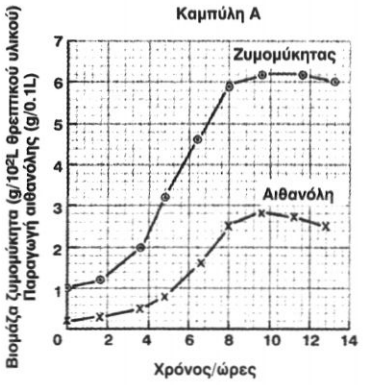
Ζύμωση είναι η διαδικασία ανάπτυξης μικροοργανισμών σε υγρό θρεπτικό υλικό κάτω από κατάλληλες συνθήκες. Τα προϊόντα της ζύμωσης είναι τα ίδια τα κύτταρα (βιομάζα) ή μερικά χρήσιμα προϊόντα τους όπως πρωτεΐνες και αντιβιοτικά. Τα προϊόντα λαμβάνονται ύστερα από τελική κατεργασία, δηλαδή από μια διεργασία καθαρισμού τους με βιοχημικές, κυρίως, τεχνικές.

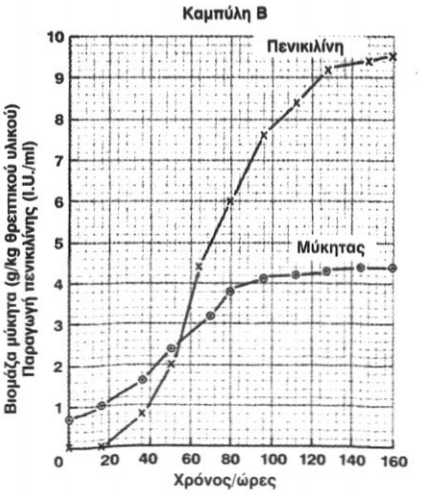
Ερωτήσεις

1. Συμπληρώστε με τις κατάλληλες λέξεις τα κενά:
Οι παράγοντες που επηρεάζουν το χρόνο διπλασιασμού είναι η διαθεσιμότητα θρεπτικών συστατικών, το ....., το ..... και η .....
Σε μια μεγάλης κλίμακας καλλιέργεια μικροοργανισμών χρησιμοποιούνται κατάλληλες συσκευές, οι .....
Προϊόντα της ζύμωσης είναι η ..... ή τα .... Κατά τη λανθάνουσα φάση ο πληθυσμός των μικροοργανισμών παραμένει .....
Η φάση κατά την οποία ο αριθμός των μικροοργανισμών αυξάνεται με ταχύ ρυθμό ονομάζεται .....

2. Για την παραλαβή ενός προϊόντος που εκκρίνεται από κύτταρα στρεπτομύκητα ακολουθούνται τα παρακάτω στάδια. Διαγράψτε εκείνα που δεν ισχύουν:
α. Διαχωρισμός και παραλαβή των κυττάρων του μύκητα.
β. Διαχωρισμός των υγρών από τα στερεά συστατικά.
γ. Παραλαβή των υγρών συστατικών.
δ. Παραλαβή των στερεών συστατικών.
ε. Καθαρισμός του επιθυμητού προϊόντος.

3. Στις παρακάτω γραφικές παραστάσεις απεικονίζεται η ανάπτυξη δύο μικροοργανισμών, του *Saccharomyces* και του *Penicillium*, και η παραγωγή προϊόντων τους, όταν αυτοί καλλιεργηθούν σε βιοαντιδραστήρες. Η καμπύλη Α αφορά την ανάπτυξη του ζυμομύκητα *Saccharomyces* και την παραγωγή αιθανόλης, ενώ η καμπύλη Β την ανάπτυξη του μύκητα *Penicillium* και την παραγωγή πενικιλίνης.
α. Εξηγήστε τις αλλαγές στην ανάπτυξη του *Saccharomyces* για τα διαστήματα 0-2, 2-6, 8-10 και 12-14 ώρες.
β. Εντοπίστε τις φάσεις ανάπτυξης του μύκητα *Saccharomyces* σε σχέση με την παραγωγή αιθανόλης.
γ. Εντοπίστε τις φάσεις ανάπτυξης του μύκητα *Penicillium* σε σχέση με την παραγωγή πενικιλίνης.





4. Ποιες είναι οι συνθήκες που πρέπει να ελέγχονται για την ανάπτυξη μικροοργανισμών σε βιοαντιδραστήρες; Για ποιο λόγο είναι απαραίτητη η διασφάλιση συνθηκών ασηψίας;

5. Στον πίνακα Α υπάρχουν τα αποτελέσματα μετρήσεων του αριθμού βακτηρίων από καλλιέργεια μικροοργανισμών σε υγρό θρεπτικό υλικό στους 30°C. Χρησιμοποιώντας τα δεδομένα αυτά κατασκευάστε την καμπύλη μεταβολής του αριθμού των βακτηρίων σε συνάρτηση με το χρόνο. Εξηγήστε τους παράγοντες που επηρεάζουν το σχήμα της καμπύλης.

Πίνακας Α

Χρόνος (ώρες)	Αριθμός βακτηρίων σε εκατομμύρια
0	9
1	10
2	11
5	18
10	400
12	550
15	550
20	550
30	550
35	225
45	30

Εργαστηριακή άσκηση 9

Χαρτογράφηση των βιοτεχνολογικών δραστηριοτήτων στη χώρα μας μέσω του Internet

Στόχος της άσκησης

Με τη δραστηριότητα αυτή σου δίνεται η δυνατότητα να χρησιμοποιήσεις το πλήθος των πληροφοριών που υπάρχουν στο διαδίκτυο (Internet), για να αποκτήσεις μια, περιορισμένη έστω, εικόνα των όσων συμβαίνουν στη χώρα μας και σχετίζονται με τη Βιοτεχνολογία. Έτσι, καλείσαι να «επισκεφτείς» ηλεκτρονικά ορισμένες ερευνητικές και παραγωγικές μονάδες στην Ελλάδα και να καταγράψεις τις δραστηριότητές τους. Εδώ σημειώνουμε ότι οι ηλεκτρονικές αυτές διευθύνσεις δεν καλύπτουν φυσικά ολόκληρη τη βιολογική και τη βιοτεχνολογική δραστηριότητα στη χώρα μας, αλλά επιλέχθηκαν ενδεικτικά.

Ηλεκτρονικές διευθύνσεις

ΕΘΝΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΕΡΕΥΝΩΝ (ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΩΝ ΕΡΕΥΝΩΝ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ)
http://www.eie.gr/Institutes/IBEB/IBEB.htm
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΡΚΟ ΚΡΗΤΗΣ
http://www.stepc.gr
ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΠΑΡΚΟ ΠΑΤΡΩΝ
http://www.psp.org.gr
ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ PASTEUR
http://www.pasteur.gr
ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΕΣ ΣΕΛΙΔΕΣ ΑΝΩΤΑΤΩΝ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΩΝ ΙΔΡΥΜΑΤΩΝ
http://www.united-hellas.com/periscope/greece-universities.htm
ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΘΑΛΑΣΣΙΑΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΡΗΤΗΣ (ΙΘΑΒΙΚ)
http://www.imbc.gr

ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ (ΙΜΒΒ)
http://www.imbb.forth.gr
ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟ ΑΓΡΟΝΟΜΙΚΟ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ ΧΑΝΙΩΝ
http://www.maich.gr/
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΠΑΡΚΟ ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ ΕΔΑΠ/ΤΠΘ
http://www.techpath.gr

ΑΣΚΗΣΗ 9η .....

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ: .....

ΗΜΕΡΟΜΗΝΙΑ: .....

Τα τελευταία χρόνια η πλειονότητα της επιστημονικής κοινότητας επικοινωνεί και παρουσιάζει τα ερευνητικά δεδομένα της στο διαδίκτυο. Η πλοήγηση στο λεγόμενο «κυβερνοχώρο», με την ευκαιρία αυτής της άσκησης, σου δίνει την ευκαιρία να διαπιστώσεις το εύρος των βιολογικών και βιοτεχνολογικών δραστηριοτήτων στη χώρα μας. Στις ιστοσελίδες που επισκέφτηκες υπάρχουν επίσης «συνδέσεις» με μια πληθώρα άλλων ελληνικών κόμβων συναφούς θεματολογίας.

α. Προσπάθησε να καταγράψεις τα κέντρα (ΑΕΙ, ΤΕΙ, Τεχνολογικά Πάρκα και Ινστιτούτα) στα οποία παρατηρείται έρευνα και παραγωγή σχετική με το αντικείμενο της Μοριακής Βιολογίας και της Βιοτεχνολογίας.

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

.....

β. Εξέτασε, σε συνεργασία με τον υπεύθυνο του μαθήματος, τη δυνατότητα να επισκεφτείς ένα τέτοιο κέντρο, το οποίο βρίσκεται σε σχετικά μικρή απόσταση από το σχολείο σου.

.....

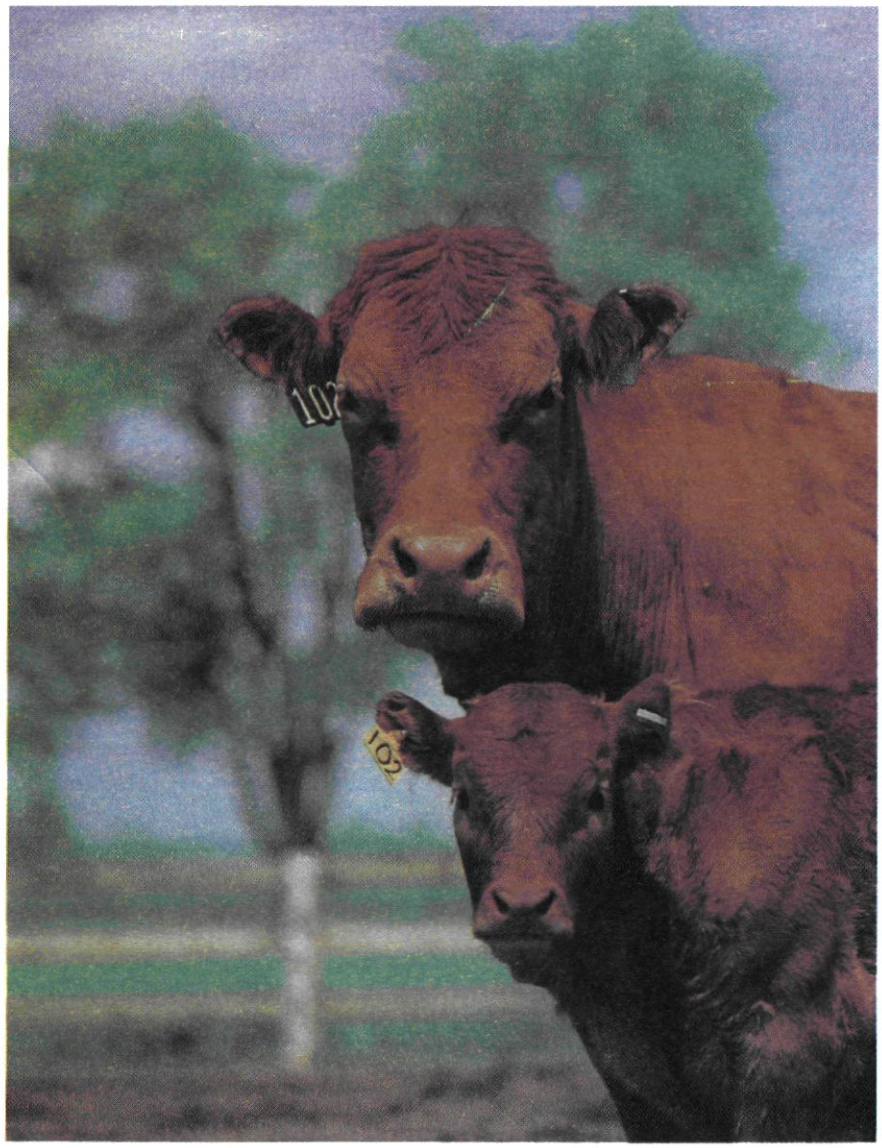
.....

.....

.....

.....

Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στη γεωργία και την κτηνοτροφία



Διαγονιδιακές αγελάδες

κεφάλαιο

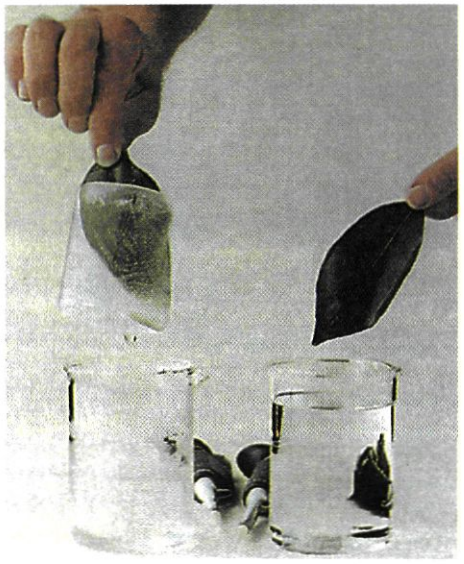
9

9. Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στη γεωργία και την κτηνοτροφία

Οι ελεγχόμενες διασταυρώσεις οδηγούν στην τροποποίηση της γενετικής σύστασης των οργανισμών

Ο πληθυσμός του πλανήτη μας αυξάνεται με ταχείς ρυθμούς. Σήμερα ο πληθυσμός είναι περίπου 6 δισεκατομμύρια, και υπολογίζεται ότι το 2050 θα ανέρχεται σε 8.5 δισεκατομμύρια. Για να καλυφθούν επαρκώς οι αυξημένες ανάγκες σε τροφή, είναι απαραίτητη η αύξηση της φυτικής και της ζωικής παραγωγής.

Ένας τρόπος βελτίωσης της φυτικής και ζωικής παραγωγής είναι οι ελεγχόμενες από τον άνθρωπο διασταυρώσεις φυτών και ζώων. Για το σκοπό αυτό πραγματοποιείται **επιλογή** φυτών και ζώων που έχουν συγκεκριμένα χαρακτηριστικά, όπως φυτά με μεγάλο μέγεθος καρπών, με ανθεκτικότητα σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες (Εικόνα 9.1) ή ζώα που παράγουν μεγάλη ποσότητα κρέατος. Οι οργανισμοί αυτοί **διασταυρώνονται** με σκοπό τη δημιουργία απογόνων με επιθυμητά χαρακτηριστικά. Αυτός ο τρόπος βελτίωσης της παραγωγής είναι χρονοβόρος και επίπονος, επειδή απαιτούνται συνεχείς διασταυρώσεις. Επιπλέον οι απόγονοι που προκύπτουν φέρουν συνήθως ορισμένους μόνο από τους επιθυμητούς χαρακτήρες μαζί με άλλες μη επιθυμητές ιδιότητες.



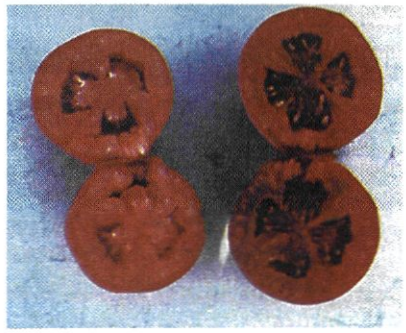
Εικόνα 9.1 Φύλλα φυτού που τροποποιήθηκε γενετικά για να είναι ανθεκτικό σε συνθήκες παγετού.

Η δημιουργία διαγονιδιακών οργανισμών ανοίγει νέους δρόμους στην αύξηση της φυτικής και ζωικής παραγωγής

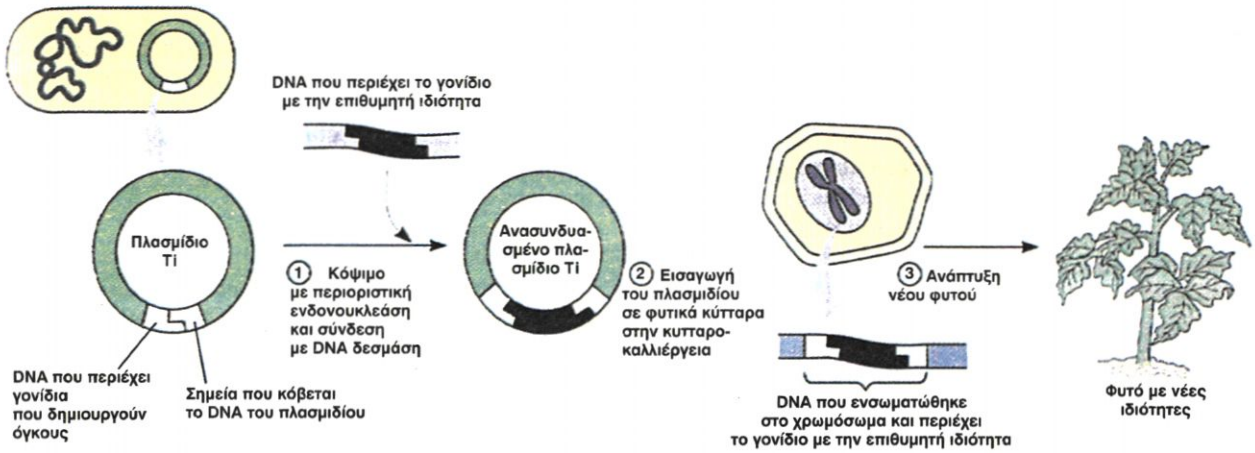
Η Γενετική Μηχανική δίνει τη δυνατότητα προσθήκης νέων γονιδίων απευθείας στον οργανισμό. Καθιστά συνεπώς δυνατή σε σύντομο χρονικό διάστημα τη δημιουργία γενετικά τροποποιημένων φυτών και ζώων, που έχουν τους επιθυμητούς χαρακτήρες όπως, για παράδειγμα, ανθεκτικότητα σε ασθένειες. Τα φυτά και τα ζώα που έχουν υποστεί γενετική αλλαγή με τη χρήση των τεχνικών Γενετικής Μηχανικής ονομάζονται **διαγονιδιακά ή γενετικά τροποποιημένα** (Εικόνα 9.2). Όπως ήταν αναμενόμενο, η παραγωγή και χρήση τους δημιουργεί διάφορους προβληματισμούς, που αφορούν τις επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου, καθώς και στο περιβάλλον. Τα ζητήματα αυτά θα συζητηθούν αναλυτικά στο τελευταίο κεφάλαιο του βιβλίου, που αναφέρεται σε θέματα Βιοηθικής.

Το *Agrobacterium* μπορεί να μεταφέρει γονίδια στα φυτά

Το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens*, το οποίο ζει στο έδαφος, διαθέτει τη φυσική ικανότητα να μολύνει φυτικά κύτταρα μεταφέροντας σ' αυτά ένα πλασμίδιο που ονομάζεται Ti (Ti = tumor inducing factor). Το **πλασμίδιο Ti** ενσωματώνεται στο γενετικό υλικό των φυτικών κυττάρων, και δημιουργεί εξογκώματα (όγκους) στο σώμα των φυτών. Οι ερευνητές, αφού απομόνωσαν το πλασμίδιο από το βακτήριο, κατόρθωσαν να απενεργοποιήσουν τα γονίδια που δημιουργούν τους όγκους τοποθετώντας στο πλασμίδιο το γονίδιο που θα προσδώσει στο φυτό μία επιθυμητή ιδιότητα (Εικόνα 9.3). Το ανασυνδυασμένο πλασμίδιο εισάγεται σε φυτικά κύτταρα που αναπτύσσονται σε ειδικές καλλιέργειες στο εργαστήριο. Τα τροποποιημένα αυτά



Εικόνα 9.2 Γενετικά τροποποιημένες τομάτες με βαθύτερο κόκκινο χρώμα σε σχέση με τις φυσιολογικές.



Εικόνα 9.3 Τρόπος χρήσης του πλασμιδίου Ti, που απομονώνεται από το βακτήριο *Agrobacterium tumefaciens*, ως φορέα για την εισαγωγή γονιδίων στα φυτά.

Εικόνα 9.4 Ψεκασμός με βακτήρια *Bacillus thuringiensis* για την καταπολέμηση εντόμων.

φυτικά κύτταρα τελικά δίνουν ένα νέο φυτικό οργανισμό, που περιέχει και εκφράζει το ξένο γονίδιο. Τα **διαγονιδιακά φυτά** που δημιουργούνται έχουν την ικανότητα να μεταβιβάζουν τις νέες ιδιότητες στους απογόνους τους.

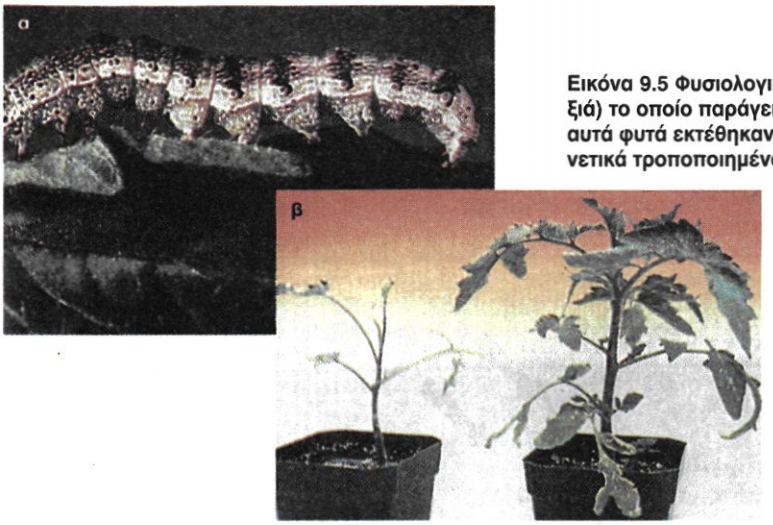
Η Βιοτεχνολογία βοηθάει στον τομέα της καταπολέμησης παρασίτων και εντόμων

Οι προσπάθειες των ερευνητών επικεντρώνονται στη δημιουργία γενετικά τροποποιημένων φυτών τα οποία θα δίνουν τη δυνατότητα στους αγρότες:

- Να προφυλάσσουν αποτελεσματικά τις καλλιέργειες από τα έντομα και τα ζιζάνια.
- Να παράγουν προϊόντα τα οποία έχουν μεγαλύτερη «διάρκεια ζωής» από το χωράφι έως τον καταναλωτή.

Τα κυριότερα φυτά τα οποία έχουν τροποποιηθεί για τις παραπάνω ιδιότητες είναι η σόγια, το καλαμπόκι (για τροφή των ζώων), το βαμβάκι, ο καπνός και η ελαιοκράμβη.

Τα έντομα μπορεί να δημιουργήσουν μεγάλα προβλήματα στη γεωργία και να οδηγήσουν σε σημαντική μείωση της παραγωγής. Μετά το Δεύτερο Παγκόσμιο Πόλεμο χρησιμοποιήθηκαν πολλά εντομοκτόνα. Με την πάροδο των χρόνων όμως έγινε κατανοητό ότι ήταν επικίνδυνα για την υγεία του ανθρώπου και προκαλούσαν μεγάλη οικολογική καταστροφή. Ήταν λοιπόν αναγκαίο να βρεθούν εναλλακτικοί τρόποι αντιμετώπισης του προβλήματος.



Εικόνα 9.5 Φυσιολογικό (αριστερά) και γενετικά τροποποιημένο φυτό (δεξιά) το οποίο παράγει τοξίνη που σκοτώνει κάμπιες εντόμων. Όταν τα δύο αυτά φυτά εκτέθηκαν σε κάμπιες (α) το φυσιολογικό φαγώθηκε ενώ το γενετικά τροποποιημένο δεν δείχνει σημάδια καταστροφής (β).

Τι του *Agrobacterium tumefaciens*. Τα γενετικά τροποποιημένα φυτά θα είναι έτσι ανθεκτικά στα διάφορα έντομα (Εικόνα 9.5). Το πρώτο φυτό στο οποίο ενσωματώθηκε το γονίδιο της ανθεκτικότητας στα έντομα του *Bacillus thuringiensis* ήταν το καλαμπόκι. (Τα γενετικά τροποποιημένα φυτά αυτού του τύπου αποτελούν τις ποικιλίες Bt).

Το βακτήριο *Bacillus thuringiensis*, που ζει στο έδαφος, παράγει μια ισχυρή **τοξίνη**, η οποία μπορεί να καταστρέψει πολλά είδη εντόμων και σκωλήκων και είναι 80.000 φορές πιο ισχυρή από πολλά εντομοκτόνα. Τα βακτήρια αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την καταπολέμηση των εντόμων. Αρχικά πολλαπλασιάζονται στο εργαστήριο και στη συνέχεια ψεκάζονται στον αγρό (Εικόνα 9.4). Όμως η τεχνική αυτή είναι αρκετά δαπανηρή, επειδή τα βακτήρια δεν επιβιώνουν για μεγάλο χρονικό διάστημα και κατά συνέπεια χρειάζονται συνεχείς ψεκασμοί. Για το λόγο αυτό έγιναν προσπάθειες απομόνωσης του γονιδίου του βακτηρίου που παράγει την τοξίνη, και μεταφοράς του στα φυτά. Η μεταφορά στα φυτά έγινε με τη βοήθεια του πλασμιδίου

ΠΙΝΑΚΑΣ 9.1: Φυτικοί και ζωικοί οργανισμοί που έχουν τροποποιηθεί γενετικά για κάποιες ιδιότητες

Οργανισμός		Ιδιότητα
Μηλιά	α	**α.** τοξίνη που σκοτώνει τα έντομα
Λάχανο	β	**β.** αντοχή στα ζιζανιοκτόνα
Βαμβάκι	α, β	**γ.** αντοχή σε αντιβιοτικά
Αγγούρι	δ	**δ.** αντοχή σε ιούς
Κουνουπίδι	δ	**ε.** διαφοροποίηση
Καλαμπόκι	α, β, δ, ε, στ	**στ.** αντίσταση στους μύκητες
Ελαιοκράμβη	α, β, γ, ζ	**ζ.** παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών
Πατάτα	β, δ, ε, ζ, η	**η.** αντοχή σε βακτήρια
Ρύζι	α, γ, ε,	**θ.** αντοχή στον παγετό
Σόγια	β, ε	**ι.** καθυστέρηση ωρίμανσης
Φράουλα	β, θ	**ια.** ταχύτερη ανάπτυξη
Σακχαρότευτλο	β, δ, ε	**ιβ.** γονίδια για ασθένειες
Καπνός	α, β, γ, δ, ε, στ, θ	**ιγ.** αντοχή στις χαμηλές θερμοκρασίες
Τομάτα	α, β, δ, ε, στ, θ, ι	
Αγελάδα	ζ, ια	
Αίγα	ζ	
Γουρούνι	ζ, ια, ιβ	
Σολομός	ια, ιγ	
Πρόβατο	ζ	
Πέστροφα	ια	

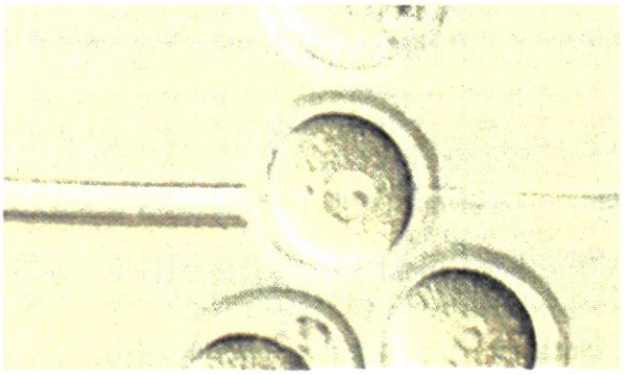
Η Βιοτεχνολογία με αριθμούς

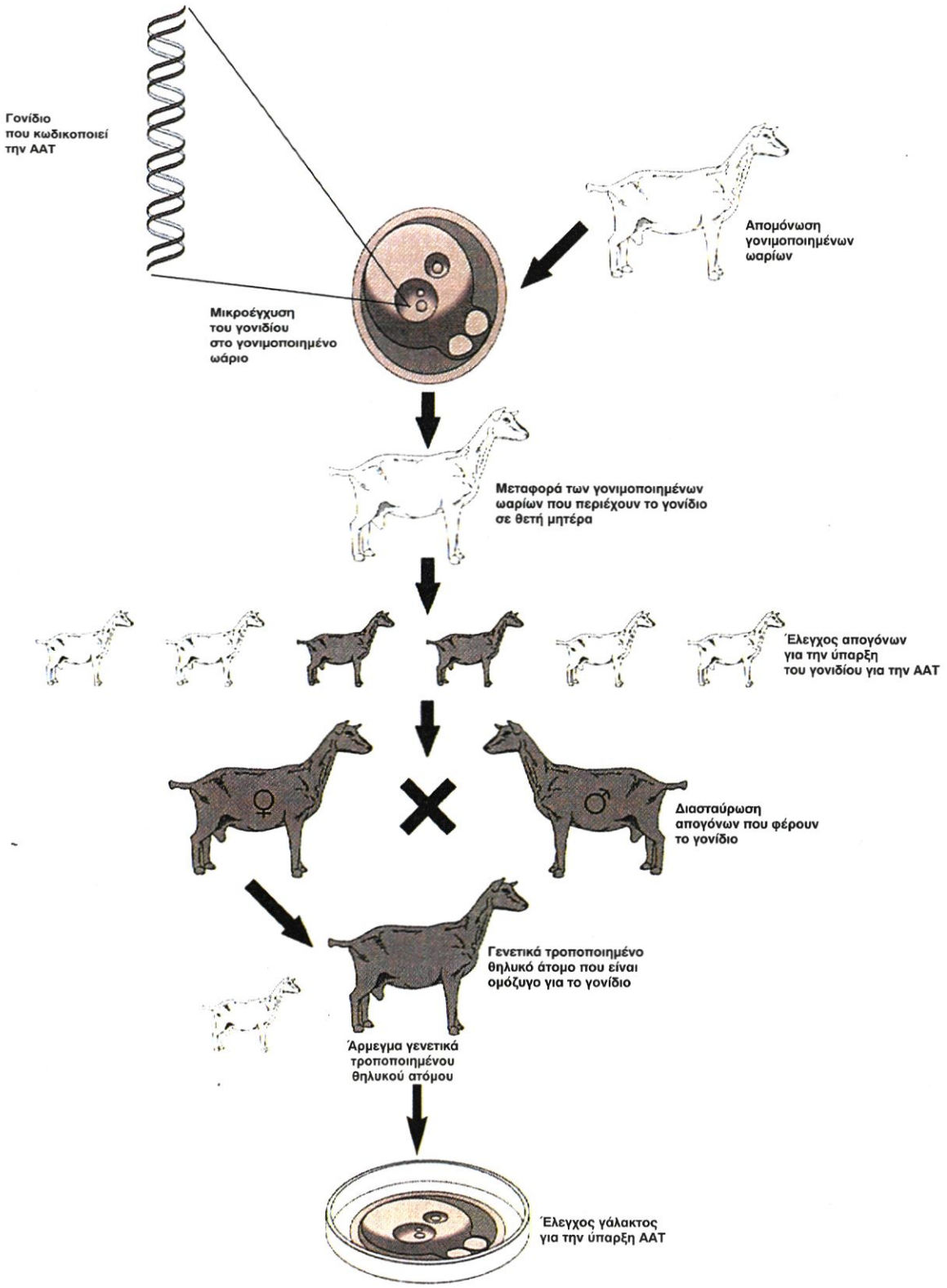
Το 1998 η καλλιέργεια γενετικά τροποποιημένων φυτών έφτανε τα 27,4 x 10^7 στρέμματα. Το 74% αφορούσε καλλιέργειες στις ΗΠΑ και το 13% στην Αργεντινή.

Η τροποποίηση του γενετικού υλικού των ζώων είναι δυνατή με διάφορες τεχνικές

Διαγονιδιακά ονομάζονται τα ζώα εκείνα στα οποία έχει τροποποιηθεί το γενετικό υλικό τους με την προσθήκη γονιδίων, συνήθως από κάποιο άλλο είδος. Υπάρχουν αρκετές μέθοδοι, οι οποίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την είσοδο του «ξένου» DNA στα κύτταρα ενός ζώου. Η σημαντικότερη από αυτές είναι η **μικροέγχυση** (Εικόνα 9.6). Στη μέθοδο αυτή χρησιμοποιούνται ωάρια του ζώου που έχουν γονιμοποιηθεί στο εργαστήριο. Σε αυτά γίνεται εισαγωγή του ξένου DNA με ειδική μικροβελόνα. Το ξένο γενετικό υλικό ενσωματώνεται συνήθως σε κάποιο από τα χρωμοσώματα του πυρήνα του ζυγωτού. Το ζυγωτό τοποθετείται στη συνέχεια στη μήτρα της «θετής» μητέρας, ενός ζώου στο οποίο θα αναπτυχθεί το έμβρυο. Η μικροέγχυση αποτελεί τη μοναδική μέθοδο δημιουργίας διαγονιδιακών αγελάδων, προβάτων, χοίρων και αιγών.

Εικόνα 9.6 Μικροέγχυση DNA.





Εικόνα 9.7 Στάδια παραγωγής φαρμακευτικών πρωτεϊνών στο γάλα διαγονιδιακών ζώων.

Στο γάλα των διαγονιδιακών ζώων μπορούν να εκκρίνονται φαρμακευτικές πρωτεΐνες

Τα **διαγονιδιακά** ζώα χρησιμοποιούνται για την παραγωγή χρήσιμων πρωτεϊνών σε μεγάλη ποσότητα. Όπως έχει ήδη αναφερθεί είναι δυνατή η παραγωγή πρωτεϊνών, όπως η ινσουλίνη και η ανθρώπινη αυξητική ορμόνη, από βακτήρια. Στις περισσότερες όμως περιπτώσεις οι πρωτεΐνες αυτές δεν είναι ακριβώς ίδιες με τις πρωτεΐνες του ανθρώπου, επειδή τα βακτήρια δεν διαθέτουν τους μηχανισμούς τροποποίησης των πρωτεϊνών που διαθέτουν οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί. Μια πολλά υποσχόμενη ιδέα είναι η παραγωγή πρωτεϊνών από κύτταρα των μαστικών αδένων των ζώων, για παράδειγμα των προβάτων και των αγελάδων. Με αυτό τον τρόπο θα είναι δυνατή η συλλογή της πρωτεΐνης από το γάλα των ζώων. Αυτός ο τρόπος παραγωγής ονομάζεται **παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών από διαγονιδιακά ζώα** (gene pharming).

Η πιο επιτυχημένη εφαρμογή αφορά την παραγωγή της ανθρώπινης α_1-αντιθρυψίνης (AAT=alpha antitrypsin) από πρόβατα. Η πρωτεΐνη αυτή παράγεται στο ήπαρ του ανθρώπου και η απουσία της, που είναι αποτέλεσμα μετάλλαξης του γονιδίου, έχει ως αποτέλεσμα γενετική ασθένεια, που οδηγεί στο εμφύσημα. Για την παραγωγή της πρωτεΐνης αυτής από τα πρόβατα απομονώθηκε το φυσιολογικό γονίδιο της AAT του ανθρώπου και στη συνέχεια με μικροέγχυση τοποθετήθηκε σε γονιμοποιημένο ωάριο προβάτου. Το πρόβατο που γεννήθηκε από το γονιμοποιημένο αυτό ωάριο ήταν η Tracy, της οποίας οι απόγονοι συνεχίζουν να έχουν το ξένο γονίδιο και να παράγουν την AAT. Οι δυνατότητες παραγωγής τέτοιων ουσιών από διαγονιδιακά ζώα είναι πολύ μεγάλες (Εικόνα 9.7).

Εκτός από την AAT, και άλλες χρήσιμες πρωτεΐνες παράγονται με τον ίδιο τρόπο, όπως ο παράγοντας IX, μία πρωτεΐνη που συμμετέχει στο μηχανισμό πήξης του αίματος και χορηγείται σε άτομα που πάσχουν από αιμορροφιλία B (Πίνακας 9.2).

Συνοψίζοντας, θα μπορούσαμε να αναφέρουμε ότι τα βήματα που απαιτούνται για την παραγωγή μιας φαρμακευτικής πρωτεΐνης ανθρώπινης προέλευσης από ένα διαγονιδιακό ζώο είναι τα παρακάτω:

- Απομόνωση του ανθρώπινου γονιδίου που κωδικοποιεί τη φαρμακευτική πρωτεΐνη που μας ενδιαφέρει.
- Μικροέγχυση του γονιδίου στον πυρήνα ενός γονιμοποιημένου ωαρίου του ζώου.
- Τοποθέτηση του γενετικά τροποποιημένου ζυγωτού στη μήτρα ενήλικου ζώου για κυοφορία.
- Γέννηση του διαγονιδιακού ζώου.
- Διασταυρώσεις με σκοπό να περάσει η τροποποιημένη γενετική πληροφορία στους απογόνους.
- Παραγωγή, απομόνωση και καθαρισμός της φαρμακευτικής πρωτεΐνης.

Είναι φανερό ότι η χρησιμοποίηση διαγονιδιακών φυτών και ζώων για την αύξηση της φυτικής και ζωικής παραγωγής παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι της κλασικής μεθόδου των διασταυρώσεων. Αυτά επιγραμματικά είναι τα παρακάτω:

- Επιλογή και προσθήκη μόνο επιθυμητών ιδιοτήτων με ταυτόχρονη διατήρηση των παλαιών επιθυμητών χαρακτηριστικών.
- Ταχύτατη παραγωγή βελτιωμένων φυτών και ζώων σε σχέση με παραδοσιακές τεχνικές.

ΠΙΝΑΚΑΣ 9.2: Φαρμακευτικές πρωτεΐνες που παράγονται από διαγονιδιακά ζώα

Πρωτεΐνη	Ασθένεια στην οποία χρησιμοποιείται
Ινσουλίνη	Σακχαρώδης διαβήτης
Παράγοντες VIII και IX	Αιμορροφιλία A και B
Ενεργοποιητής πλασμινογόνου (tPA)	Θρόμβωση αγγείων, Έμφραγμα
Ιντερφερόνες	Καρκίνος
Διαμεμβρανικός ρυθμιστής	Κυστική ίνωση
α_1-αντιθρυψίνη (AAT)	Πνευμονικό εμφύσημα
Παράγοντας CD4	AIDS
Αυξητική ορμόνη	Αχονδροπλασία

Σολομός γίγας

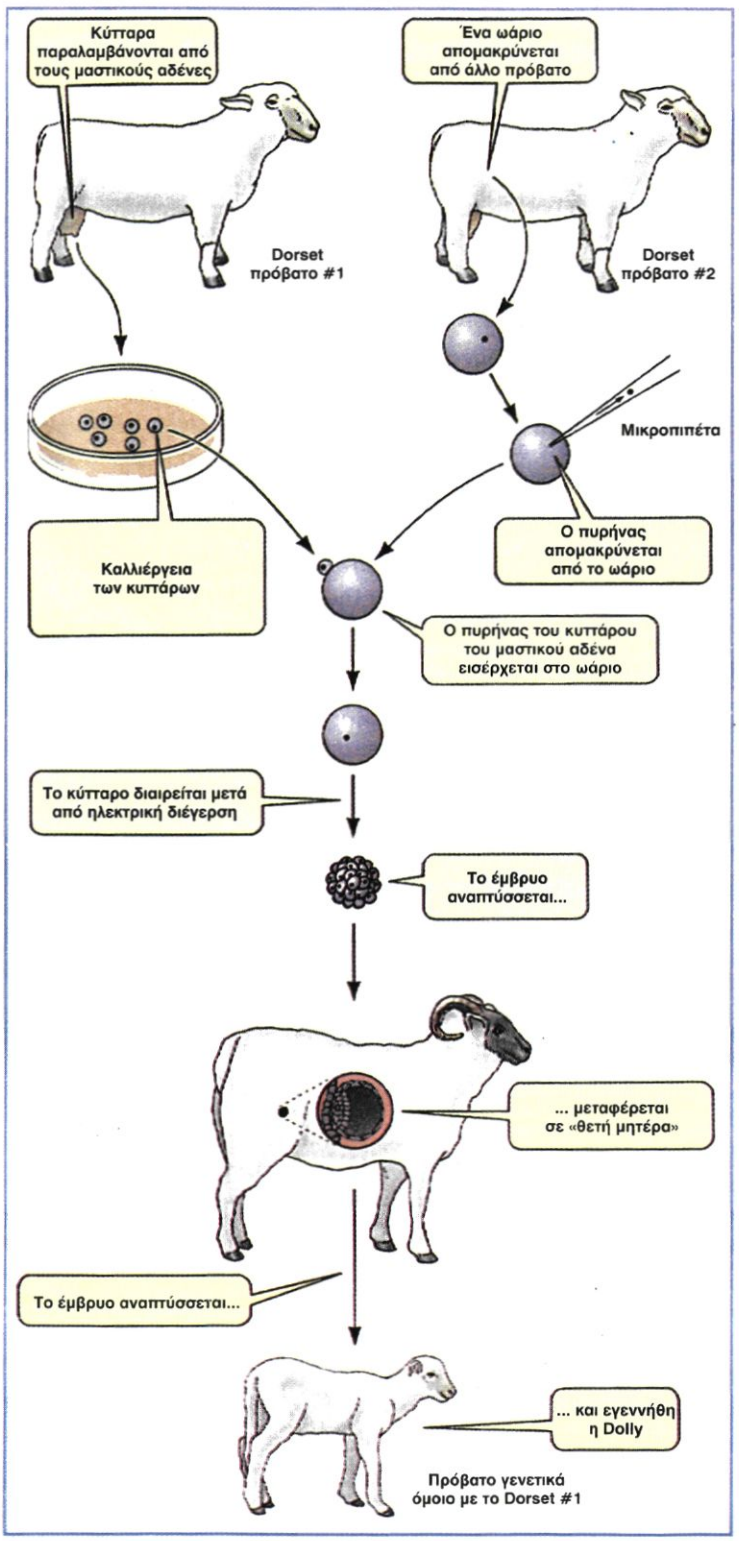
Πρόσφατα στον Καναδά ερευνητές κατόρθωσαν να εισαγάγουν στα κύτταρα σολομού ρυθμιστικό γονίδιο, από ένα είδος βακαλάου, το οποίο ενεργοποιεί το γονίδιο της αυξητικής ορμόνης του σολομού. Σε πειραματικές ιχθυοκαλλιέργειες στη Σκωτία, οι σολομοί αυτοί αναπτύσσονται δέκα φορές ταχύτερα από τους φυσιολογικούς και φτάνουν το τριακονταπλάσιο βάρος από εκείνους.

Η Βιοτεχνολογία με αριθμούς

Έχει αναφερθεί παραγωγή 35 γραμμαρίων α_1-αντιθρυψίνης του ανθρώπου από ένα λίτρο γάλακτος διαγονιδιακού προβάτου. Αν συνυπολογιστεί ότι ένα πρόβατο παράγει μέχρι 800 λίτρα γάλα το χρόνο, είναι κατανοητό ότι η παραγωγή φαρμακευτικών πρωτεϊνών από διαγονιδιακά ζώα είναι το περισσότερο υποσχόμενο επίτευγμα από τότε που γίνεται λόγος για σύγχρονη Βιοτεχνολογία.

Και ξαφνικά όλοι μιλάνε για κλωνοποίηση...

Το 1997, όταν οι ερευνητές του Ινστιτούτου Roselin της Σκωτίας ανακοίνωσαν ότι κλωνοποίησαν ένα πρόβατο, το νέο έκανε αμέσως το γύρο του κόσμου με πηχυαίους τίτλους. Το πρόβατο Dolly δημιουργήθηκε, όταν ο πυρήνας ενός κυττάρου του μαστικού αδένα ενός εξάχρονου πρόβατου τοποθετήθηκε στο ωάριο ενός άλλου πρόβατου. Από το ωάριο είχε προηγουμένως αφαιρεθεί ο πυρήνας. Το έμβρυο το οποίο δημιουργήθηκε ύστερα από 3-4 διαιρέσεις εμφυτεύτηκε στη μήτρα θετής μητέρας-προβατίνας, η οποία γέννησε τη Dolly.



Η δημιουργία της Dolly δεν προξένησε έκπληξη στους βιολόγους όσο στον υπόλοιπο κόσμο, επειδή είχε προηγηθεί κλωνοποίηση αμφιβίων από την αρχή της δεκαετίας του 1960. Παρόμοια τεχνική χρησιμοποιήθηκε και για την κλωνοποίηση θηλαστικών.

Η κλωνοποίηση όμως είναι πολύ χρήσιμη στον πολλαπλασιασμό διαγονιδιακών ζώων. Η δημιουργία ενός διαγονιδιακού ζώου που παράγει τον ανθρώπινο παράγοντα πήξης του αίματος, για παράδειγμα, κοστίζει 1-2 εκατομμύρια ευρώ. Με κλωνοποίηση μπορούν εύκολα να παραχθούν πολλά πανομοιότυπα ζώα και έτσι ακόμη μεγαλύτερες ποσότητες του φαρμάκου.

Η κλωνοποίηση μπορεί επίσης να συνεισφέρει στην προστασία από την εξαφάνιση διάφορων ζώων του πλανήτη μας. Στις καταψύξεις πολλών ζωολογικών κήπων υπάρχουν κατεψυγμένα ωάρια και σπερματοζωάρια ή έμβρυα ζώων που κινδυνεύουν να εξαφανιστούν. Πυρήνες από αυτά τα κύτταρα μπορούν να μεταφερθούν σε απύρηνα ωοκύτταρα του είδους που μας ενδιαφέρει και στη συνέχεια να κυοφορηθούν στο ίδιο ή σε συγγενικό είδος ζώου.

Περίληψη

Η επιλογή και διασταύρωση οργανισμών με επιθυμητές ιδιότητες είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιείται για την αύξηση της φυτικής και ζωικής παραγωγής. Η μέθοδος αυτή είναι επίπονη και πολλές φορές δε δίνει τα επιθυμητά αποτελέσματα. Με τη χρήση μεθόδων Γενετικής Μηχανικής είναι δυνατή η απευθείας μεταφορά στα φυτά και τα ζώα γενετικού υλικού που φέρει τις επιθυμητές ιδιότητες. Οι οργανισμοί που δημιουργούνται με αυτό τον τρόπο είναι γενετικά τροποποιημένοι και ονομάζονται διαγονιδιακοί ή γενετικά τροποποιημένοι. Για τη μεταφορά γενετικού υλικού σε μεγάλη κατηγορία φυτών χρησιμοποιείται το πλασμίδιο Ti του βακτηρίου *Agrobacterium tumefaciens*. Στα ζώα χρησιμοποιείται με σημαντικά ποσοστά επιτυχίας η τεχνική της μικροέγχυσης. Από διαγονιδιακά ζώα έχει επιτευχθεί η παραγωγή σημαντικών φαρμακευτικών πρωτεϊνών.

Ερωτήσεις

1. Αναφέρετε από μία μέθοδο μεταφοράς γονιδίων σε φυτά και ζώα.

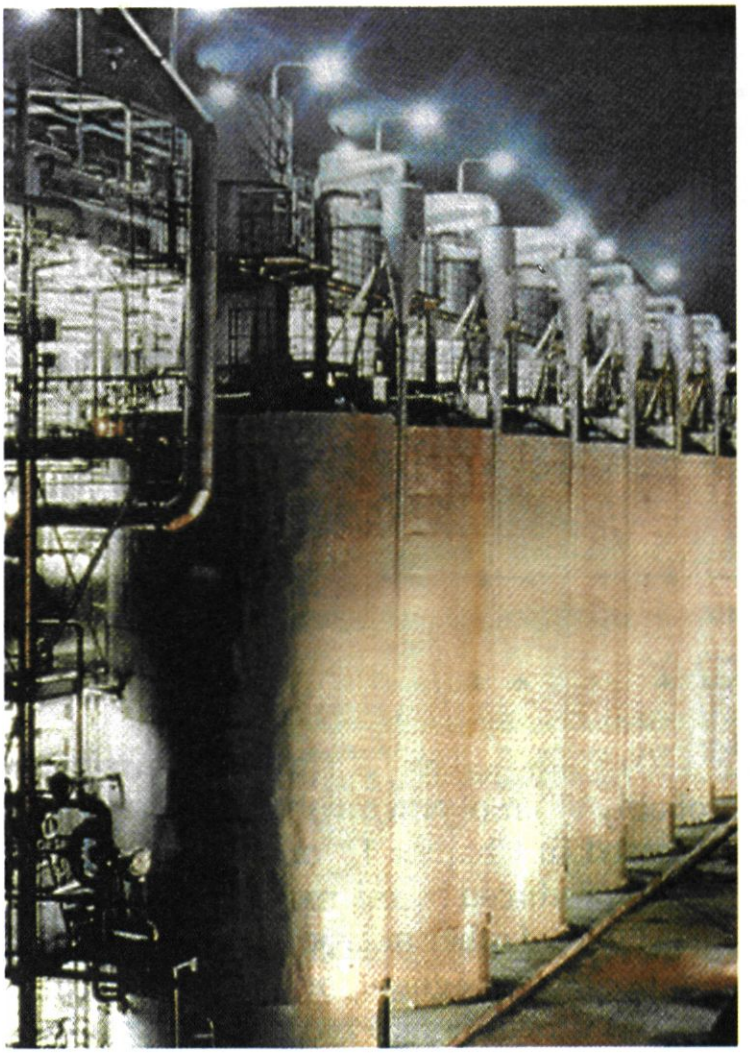
2. Αναφέρετε τις εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στη φυτική παραγωγή.

3. Περιγράψτε τη μέθοδο με την οποία χρησιμοποιούνται βακτήρια με στόχο την εξολόθρευση βλαβερών, για τις αγροτικές καλλιέργειες, εντόμων.

4. Με ποιον από τους παρακάτω τρόπους θα μπορούσε να προκύψει ένα μηρυκαστικό το οποίο να παράγει τον αντιπηκτικό παράγοντα IX στο γάλα του:
α. Με τη μέθοδο της επιλογής και των διασταυρώσεων.
β. Με μεθόδους Γενετικής Μηχανικής.
Αιτιολογήστε την απάντησή σας.

5. Για ποιο λόγο χρησιμοποιείται η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA σε οικόσιτα ζώα;

Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στη βιομηχανία



Βιοαντιδραστήρες χωρητικότητας 240 m^3
για την παραγωγή αμινοξέων

κεφάλαιο

10

10. Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στη βιομηχανία

Οι μικροοργανισμοί βρίσκουν μεγάλη εφαρμογή στη βιομηχανία όπου χρησιμοποιούνται σε ευρεία κλίμακα για να παράγουν προϊόντα εμπορικής αξίας. Στις παλαιότερες εφαρμογές περιλαμβάνεται η παραγωγή μπίρας και κρασιού με αλκοολική ζύμωση. Ακολούθησε η παραγωγή φαρμακευτικών προϊόντων, αντιβιοτικών, ενζύμων και άλλων χημικών ουσιών. Σε όλες αυτές τις διαδικασίες γινόταν προσπάθεια να παραχθεί το προϊόν που ενδιαφέρει σε μεγάλη ποσότητα, δηλαδή να υπάρχει υψηλή απόδοση. Αυτό γινόταν με δύο μεθόδους:

- Τη γενετική βελτίωση των οργανισμών με παραδοσιακό τρόπο (επιλογή στελεχών με υψηλή απόδοση και διασταυρώσεις).
- Τη βελτιστοποίηση της διαδικασίας που ακολουθείται για την παραγωγή του προϊόντος.

Σήμερα η Βιοτεχνολογία έρχεται να συμβάλει στις παραδοσιακές μεθόδους. Έτσι με την τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA δημιουργήθηκαν **γενετικά τροποποιημένοι μικροοργανισμοί** που παράγουν προϊόντα με βελτιωμένες ιδιότητες.

Οι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούνται ευρύτατα για την παραγωγή βιοτεχνολογικών προϊόντων επειδή παρουσιάζουν σειρά πλεονεκτημάτων, δηλαδή:

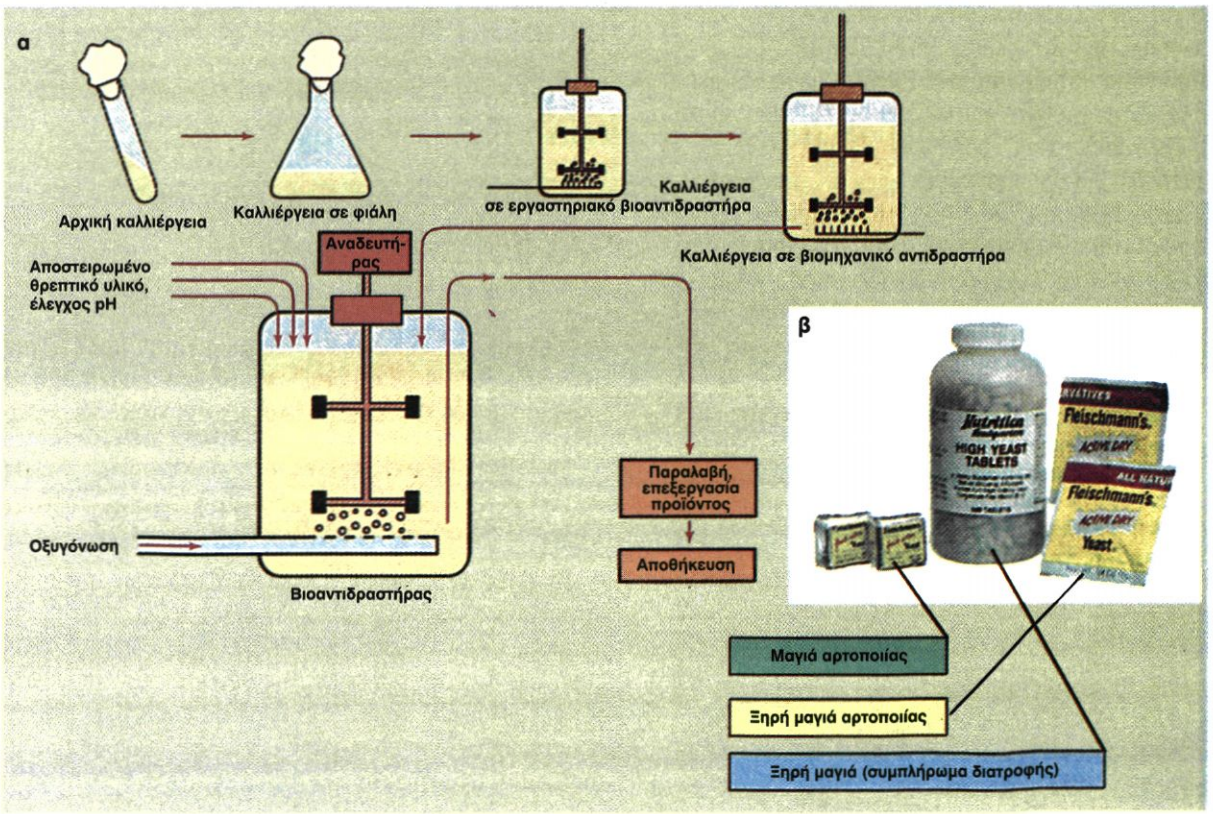
- Έχουν ταχύτατο ρυθμό ανάπτυξης.
- Μπορούν να αναπτυχθούν σε ποικιλία θρεπτικών υποστρωμάτων και συνθηκών καλλιέργειας.
- Εμφανίζουν τεράστια ποικιλία στα μεταβολικά μονοπάτια και κατά συνέπεια μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή πολλών ειδών προϊόντων.
- Παράγουν, όταν καλλιεργηθούν στις κατάλληλες συνθήκες, μεγάλες ποσότητες προϊόντων.
- Τα προϊόντα που παράγουν απομονώνονται και «καθαρίζονται» σχετικά εύκολα, επειδή τα περισσότερα από αυτά είναι εξωκυτταρικά, δηλαδή εκκρίνονται στο θρεπτικό υλικό.

Στο κεφάλαιο αυτό θα αναφερθούμε στις εφαρμογές των μικροοργανισμών στη βιομηχανική παραγωγή.

Η βιομάζα είναι ένα από τα προϊόντα των μικροβιακών ζυμώσεων

Η μικροβιακή **βιομάζα** αποτελείται από μεγάλο αριθμό κυττάρων των μικροοργανισμών που έχουν παραχθεί σε

Εικόνα 10.1 α. Στάδια παραγωγής ζύμης. β. Φωτογραφία προϊόντων ζύμης: μαγιά αρτοποιίας, συμπλήρωμα διατροφής, ξηρή μαγιά.



βιοαντιδραστήρες. Η βιομάζα περιέχει μεγάλη ποσότητα πρωτεϊνών και άλλων θρεπτικών συστατικών και χρησιμοποιείται ως τροφή από τον άνθρωπο ή τα ζώα.

Η παραγωγή βιομάζας παρουσιάζει πλεονεκτήματα όπως χαμηλό κόστος, προστασία του περιβάλλοντος, υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη, γρήγορη και ελεγχόμενη παραγωγή και απαίτηση σχετικά μικρού χώρου για την παραγωγή της.

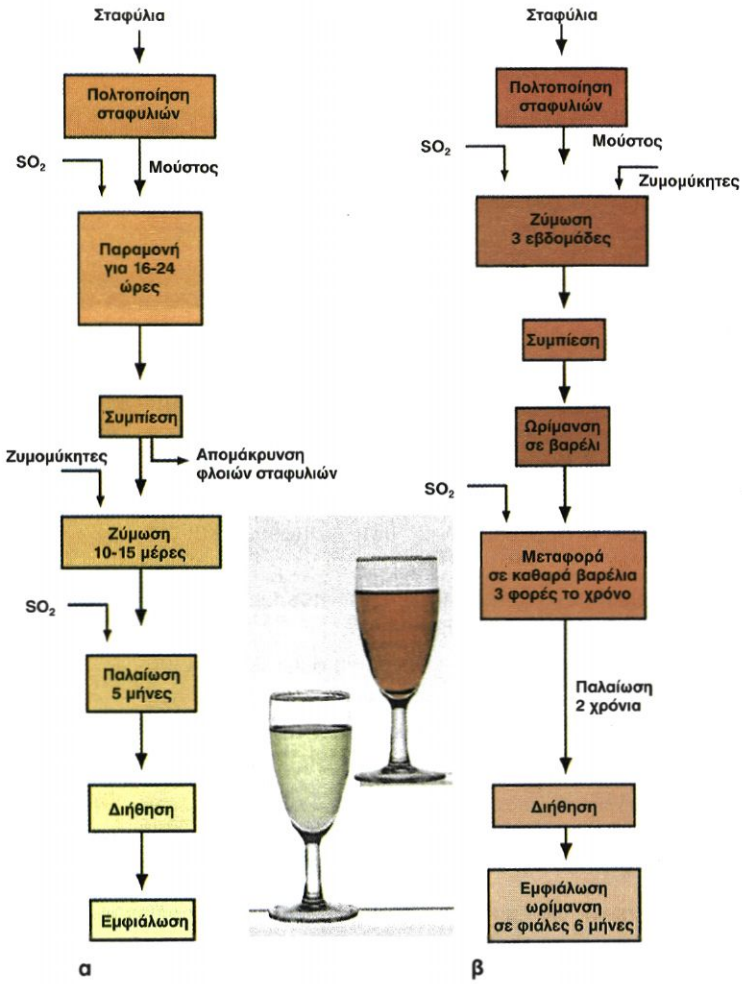
Η παραγωγή μαγιάς αρτοποιίας (ζυμομυκήτων) αποτελεί την παλαιότερη εφαρμογή παραγωγής βιομάζας. Η μαγιά παράγεται σε βιομηχανική κλίμακα από τις αρχές του 20ού αιώνα.

Ζύμες (ζυμομύκητες)

Οι ζύμες είναι μία ομάδα μονοκύτταρων μυκήτων. Πολλαπλασιάζονται ταχύτατα κάτω από αερόβιες συνθήκες, ενώ απουσία O_2 μετατρέπουν τη γλυκόζη σε αιθυλική αλκοόλη. Αποτελούν την πιο σημαντική και ευρύτερα χρησιμοποιούμενη κατηγορία μικροοργανισμών στη βιομηχανία. Καλλιεργούνται με σκοπό την παραγωγή ζύμης αρτοποιίας (μαγιά), τη χρήση τους στις αντιδράσεις αλκοολικής ζύμωσης και την παραγωγή διάφορων προϊόντων όπως οι βιταμίνες C και D. Η ζύμη αρτοποιίας παράγεται ύστερα από ανάπτυξη αρχικής καλλιέργειας μυκήτων σε βιοαντιδραστήρες και χρησιμοποιείται κυρίως για την παρασκευή του ψωμιού (Εικόνα 10.1).

Η πρώτη ύλη για την παρασκευή ψωμιού είναι το αλεύρι, που περιέχει σε μεγάλες ποσότητες άμυλο. Στους κόκκους του σιταριού περιέχονται ένζυμα, τα οποία διασπούν το άμυλο σε μαλτόζη (δισακχαρίτης) και γλυκόζη. Στη συνέχεια προστίθενται μύκητες, που διασπούν αναερόβια τη γλυκόζη σε αιθανόλη και απελευθερώνουν CO_2 (βλ. αλκοολική ζύμωση). Το παραγόμενο CO_2 διογκώνει τη ζύμη, η οποία φουσκώνει. Η αιθανόλη που παράγεται κατά την αλκοολική ζύμωση εξατμίζεται στο ψήσιμο του ψωμιού. Για τη διάσπαση της γλυκόζης χρησιμοποιούνται κυρίως μύκητες του είδους *Saccharomyces cerevisae,* επειδή παράγουν μεγάλες ποσότητες CO_2.

Η Βιοτεχνολογία με αριθμούς
Ένα γραμμάριο μαγιάς περιέχει περίπου $2x10^{10}$ κύτταρα ζυμομύκητα.



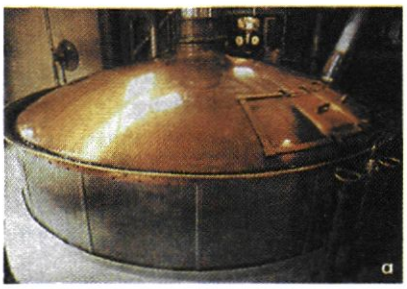
Εικόνα 10.2
Στάδια παραγωγής α. λευκού και β. ερυθρού οίνου.

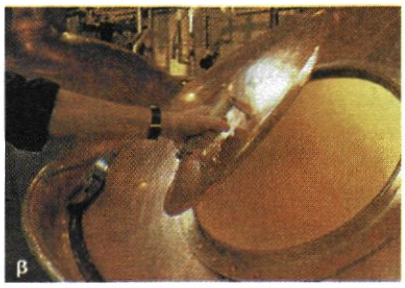
Η αλκοολική ζύμωση είναι μία αντίδραση που χρησιμοποιείται για την παραγωγή κρασιού και μπίρας

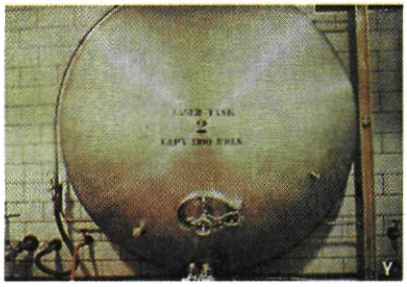
Η **αλκοολική ζύμωση** είναι η διαδικασία παραγωγής αιθυλικής αλκοόλης και διοξειδίου του άνθρακα από τη διάσπαση σακχάρων, όπως η γλυκόζη, σύμφωνα με την αντίδραση:

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

Τη σειρά αυτή των βιοχημικών αντιδράσεων την πραγματοποιούν ορισμένα είδη ζυμών όπως ο *Saccharomyces cerevisae.* Η αλκοολική ζύμωση έχει εφαρμογή τόσο στη βιομηχανική παραγωγή αλκοόλης όσο και στην παραγωγή των αλκοολούχων ποτών. Στη Βραζιλία και στις ΗΠΑ χρησιμοποιούνται φθηνές πρώτες ύλες, όπως μελάσα, υποπροϊόν παραγωγής ζάχαρης που περιέχει γλυκόζη και







Εικόνα 10.3 Παραγωγή μπίρας. α.β. Το εκχύλισμα αναμιγνύεται με σακχαρούχο λυκίσκο και βράζει. γ. Το υγρό μεταφέρεται σε μεγάλα δοχεία ζύμωσης όπου η γλυκόζη μετατρέπεται σε αλκοόλη και CO_2. δ. Το προϊόν της ζύμωσης αποθηκεύεται για μία εβδομάδα για να κατακαθίσουν τα στερεά κατάλοιπα της ζύμωσης. Η μπίρα φιλτράρεται και αποθηκεύεται.

φρουκτόζη, ή άμυλο από αραβόσιτο, οι οποίες μετατρέπονται παρουσία του μύκητα *Saccharomyces cerevisae σε* αιθανόλη. Η αιθανόλη που παράγεται με αυτό τον τρόπο χρησιμοποιείται σε μείγμα με βενζίνη ως καύσιμο αυτοκινήτων. Η σημαντικότερη όμως εφαρμογή της αλκοολικής ζύμωσης είναι η παραγωγή αλκοολούχων ποτών. Τα πιο σημαντικά από αυτά είναι το κρασί, το οποίο παράγεται με ζύμωση των σακχάρων του σταφυλιού, και η μπίρα, η οποία παράγεται με ζύμωση των σακχάρων που περιέχονται στους σπόρους διάφορων σιτηρών.

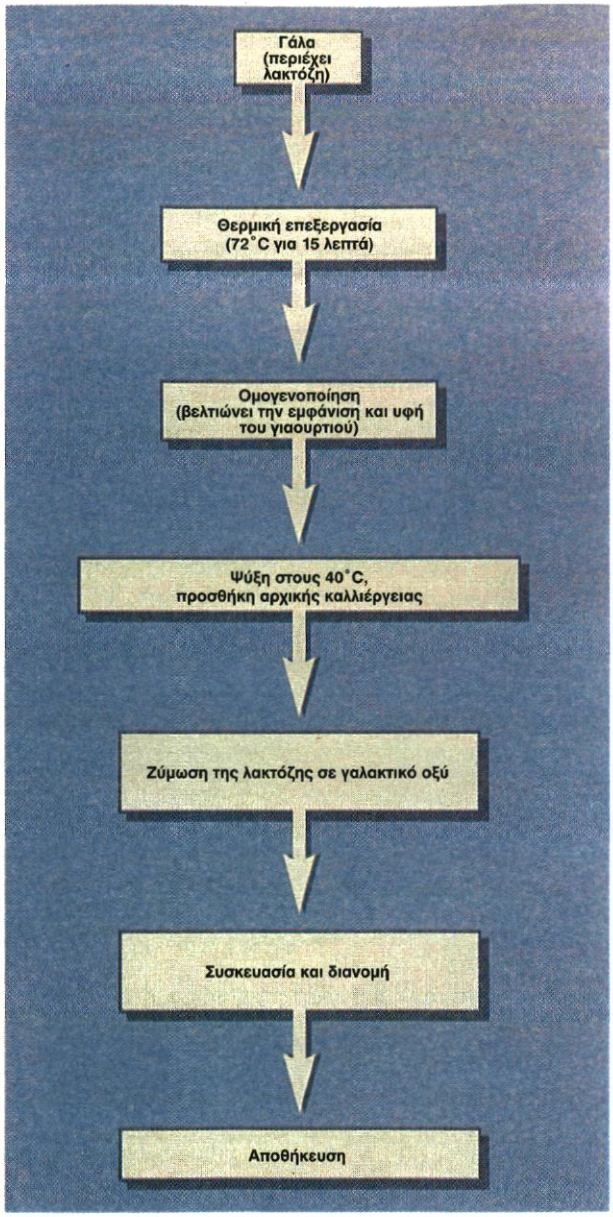
Στην Ευρώπη για την παραγωγή κρασιού χρησιμοποιούνται ποικιλίες αμπέλου που ανήκουν στο είδος *Vitis vinifera*.

Τα σταφύλια συλλέγονται όταν ωριμάσουν, οπότε και η συγκέντρωση των σακχάρων είναι αρκετά υψηλή. Στη συνέχεια συνθλίβονται με μηχανικό τρόπο και παράγεται ο μούστος, που είναι πλούσιος σε σάκχαρα. Η ζύμωση του μούστου γίνεται σε δύο στάδια. Στο αρχικό στάδιο ο μύκητας αναπτύσσεται κάτω από αερόβιες συνθήκες. Όταν εξαντληθεί το οξυγόνο που περιέχεται στο μούστο, αναστέλλεται η ανάπτυξη του μύκητα και αρχίζει η **αναερόβια μετατροπή των σακχάρων** σε αιθυλική αλκοόλη. Οι ζύμες όμως δεν μπορούν να επιβιώσουν σε συγκέντρωση αλκοόλης μεγαλύτερη από 14%, έτσι με την αύξηση της συγκέντρωσης της αλκοόλης στο μούστο ολοκληρώνεται η ζύμωση. Η διαδικασία της ζύμωσης πραγματοποιείται σε θερμοκρασία 21-24°C, διότι οι ζύμες αδρανοποιούνται σε μεγαλύτερες θερμοκρασίες. Η ζύμωση πραγματοποιείται είτε από μύκητες φυσικού τύπου, που υπάρχουν στα σταφύλια όταν αυτά συλλέγονται, είτε από ειδικούς μύκητες που αναπτύσσονται σε εργαστηριακή καλλιέργεια. Οι τελευταίοι μπορούν και αναπτύσσονται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση αλκοόλης από τους φυσικούς. Η ποιότητα του κρασιού που παράγεται εξαρτάται από την ποικιλία της αμπέλου που χρησιμοποιείται, από το συγκεκριμένο είδος του ζυμομύκητα που πραγματοποίησε την αλκοολική ζύμωση και από τις συνθήκες ζύμωσης. Γενικά, τα κόκκινα κρασιά έχουν υψηλότερη συγκέντρωση αλκοόλης και περισσότερο άρωμα από τα λευκά (Εικόνα 10.2).

Η πρώτη ύλη για την παραγωγή μπίρας είναι οι σπόροι κριθαριού και σε μερικές περιπτώσεις σιταριού. Οι σπό-

Αφρώδης οίνος

Σύμφωνα με την παράδοση ο πρώτος που παρασκεύασε αυτό τον τύπο κρασιού ήταν ο Βενεδικτίνος μοναχός Dom Perignon. Για την παραγωγή αφρώδους οίνου χρησιμοποιούνται συγκεκριμένες ποικιλίες αμπέλου: λευκό Chardonnay, Pinot Noir και Pinot Meunier. Η διαδικασία παραγωγής περιλαμβάνει δύο διαδοχικές ζυμώσεις. Στην πρώτη ο μούστος μετατρέπεται σε κρασί. Μόλις ολοκληρωθεί η πρώτη ζύμωση, προστίθεται μία μικρή ποσότητα κρασιού, ζάχαρης και ζυμομήκητα (liqueur de tirage) και η φιάλη σφραγίζεται. Το μείγμα αυτό ξεκινάει μία δεύτερη ζύμωση κατά την οποία παράγεται CO_2, το οποίο, επειδή δεν μπορεί να διαφύγει, παραμένει στο μπουκάλι. Στη συνέχεια η φιάλη τοποθετείται υπό γωνία με το λαιμό προς τα κάτω. Με αυτό τον τρόπο συσσωρεύονται στο λαιμό της φιάλης οι μύκητες και τα υπόλοιπα στερεά κατάλοιπα της ζύμωσης (κατακάθι). Για να απομακρυνθεί το κατακάθι, ψύχεται ο λαιμός και ανοίγεται το πώμα. Τέλος η φιάλη σφραγίζεται, για να ολοκληρωθεί η ζύμωση. Η ονομασία του αφρώδους οίνου έχει συνδεθεί με την περιοχή Champagne της νοτιοανατολικής Γαλλίας, όπου άρχισε να παράγεται σε σημαντικές ποσότητες στα τέλη του 17ου αιώνα. Για τους αφρώδεις οίνους που παράγονται σε άλλες χώρες εκτός της Γαλλίας, δεν επιτρέπεται η χρήση της εμπορικής ονομασίας Champagne. Έτσι, για παράδειγμα, ο αφρώδης οίνος στην Ιταλία έχει την εμπορική ονομασία Spumante και στη Γερμανία Sekt.



Εικόνα 10.4 Στάδια παραγωγής γιαουρτιού.

ροι επωάζονται σε συγκεκριμένες συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας που ευνοούν τη μερική βλάστηση, οπότε το άμυλο το οποίο περιέχουν μετατρέπεται σε σάκχαρα όπως η μαλτόζη. Η διαδικασία της βλάστησης τερματίζεται με θέρμανση στους 80°C. Οι σπόροι στη συνέχεια σπάνε μηχανικά και τα σάκχαρα εκχυλίζονται με ζεστό νερό. Στο εκχύλισμα προστίθεται λυκίσκος, βότανο με αντιμικροβιακές ιδιότητες, που προσδίδει άρωμα στο ποτό, και στη συνέχεια συμπυκνώνεται με βρασμό. Η ζύμωση των σακχάρων που περιέχονται στο εκχύλισμα πραγματοποιείται με τη βοήθεια μυκήτων. Τα προϊόντα της αναερόβιας ζύμωσης είναι η αιθανόλη, που φτάνει σε τελική συγκέντρωση 3.5-8% και το CO_2 (εικόνα 10.3).

Τα γαλακτοκομικά προϊόντα είναι προϊόντα ζυμώσεων

Η ζύμωση των σακχάρων του γάλακτος παράγει μεγάλη ποικιλία προϊόντων. Τα διαφορετικά είδη προϊόντων εξαρτώνται από τη σύνθεση του γάλακτος (πλήρες ή ημιαποβουτυρωμένο, από αιγοπρόβατα ή βοοειδή κτλ.), από το είδος των μικροοργανισμών, από τις συνθήκες ζύμωσης και από τα πρόσθετα που χρησιμοποιούνται. Η χαρακτηριστική αντίδραση ζύμωσης αφορά τη μετατροπή των σακχάρων, όπως της γλυκόζης, που περιέχονται στο γάλα σε γαλακτικό οξύ.

$$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CH_3CHOHCOOH$$

Η παραγωγή του γαλακτικού οξέος μειώνει το pH του προϊόντος δίνοντας τη δυνατότητα συντήρησής του για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

Γιαούρτι

Το γιαούρτι είναι προϊόν ζύμωσης του γάλακτος (Εικόνα 10.4). Για την παρασκευή του μπορούν να χρησιμοποιηθούν διάφοροι τύποι γάλακτος όπως το πλήρες, το ημιαποβουτυρωμένο κτλ. Το γάλα που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί για την παρασκευή γιαουρτιού αρχικά παστεριώνεται (στους 72°C για 15 λεπτά), για να καταστραφούν οι παθογόνοι μικροοργανισμοί που περιέχονται σε αυτό. Στη συνέχεια προστίθεται καλλιέργεια μικροοργανισμών, όπως του γένους *Lactobacillus* και *Streptococcus*, που μετατρέπουν τη λακτόζη (δισακχαρίτης) του γάλακτος σε γαλακτικό οξύ, μειώνοντας το pH του γάλακτος σε 5,5 και προσδίδουν στο γιαούρτι τη χαρακτηριστική κρεμώδη υφή. Οι μικροοργανισμοί αυτοί παράγουν επίσης αιθανάλη (ακεταλδεΰδη), που προσδίδει χαρακτηριστικό άρωμα στο γιαούρτι. Για την πραγματοποίηση των παραπάνω αντιδράσεων το γάλα επωάζεται για 12 ώρες στους 32°C. Εκτός από τη θρεπτική αξία του, το γιαούρτι προσφέρει τη δυνατότητα αξιοποίησης των πλεονασμάτων γάλακτος, αφού είναι ένα προϊόν με υψηλή θρεπτική αξία, που μπορεί να διατηρηθεί για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα από ότι το γάλα.

Παραγωγή τυριού

Η παραδοσιακή παραγωγή τυριών περιελάμβανε τη χρήση μικροοργανισμών, που μετέτρεπαν τη λακτόζη και τα υπόλοιπα σάκχαρα του γάλακτος σε γαλακτικό οξύ με επακόλουθη μείωση του pH, καθώς και την προσθήκη πυτιάς, που περιέχει ένα ένζυμο, τη ρεννίνη, από το στομάχι μόσχου. Η ρεννίνη υδρολύει την καζεΐνη (πρωτεΐνη του γάλακτος). Με αυτό τον τρόπο σχηματίζονται «συσσωματώματα» πλούσια σε πρωτεΐνη και λίπος (τυρόπηγμα) (Εικόνα 10.5). Στις σύγχρονες τυροκομικές μονάδες χρησιμοποιείται παστεριωμένο γάλα, στο οποίο προστίθεται καλλιέργεια βακτηρίων γα-

Τυρί με τρύπες

Όπως και στον Obelix μπορεί και σε εμάς να φαίνεται παράξενο ότι σε μερικούς τύπους τυριών, όπως στο τυρί Emental, υπάρχουν στην τυρομάζα τρύπες. Στο τυρί Emental οι «τρύπες» δημιουργούνται από το CO_2, που απελευθερώνεται και δεν μπορεί να διαφύγει από την τυρομάζα κατά τη διάρκεια της ζύμωσης. Το CO_2, μαζί με το προπιονικό οξύ, που προσδίδει χαρακτηριστικό άρωμα στο τυρί, είναι προϊόν μεταβολισμού του μικροοργανισμού *Propionbacterium shermanii*.

Εικόνα 10.5 Παρασκευή τυριού.

λακτικού οξέος και ρεννίνη, που έχει παραχθεί από βακτήρια. Η παρασκευή των διάφορων ειδών τυριού οφείλεται στη χρησιμοποίηση διαφορετικών μικροοργανισμών.

Άλλα προϊόντα μικροβιακών ζυμώσεων

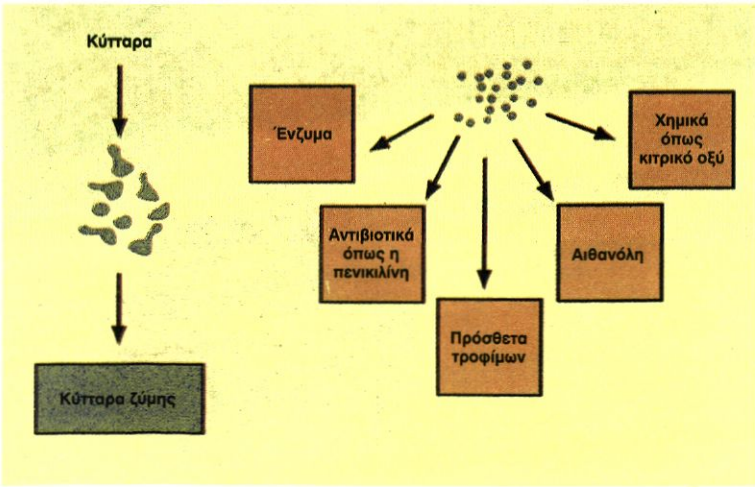
Εκτός από την παραγωγή βιομάζας, τροφίμων και αιθανόλης, οι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούνται για την παραγωγή και άλλων προϊόντων, όπως ενζύμων, αντιβιοτικών, προσθέτων τροφίμων κτλ., τα οποία έχουν εφαρμογές στη βιομηχανία των τροφίμων, στην Ιατρική, στην Αναλυτική Χημεία, στην έρευνα (Εικόνα 10.6).

Τα προϊόντα αυτά τα οποία παράγονται κατά τη ζύμωση εξαρτώνται από:

- Το συγκεκριμένο οργανισμό.
- Τις συνθήκες της ζύμωσης (θρεπτικό υλικό, θερμοκρασία, pH, O_2).
- Τη φάση ανάπτυξης της καλλιέργειας.

Το σύνολο των προϊόντων που παράγονται από τους οργανισμούς φυσικού τύπου είναι σε μικρές συνήθως ποσότητες που όμως επαρκούν για να καλύψουν τις μεταβολικές ανάγκες τους. Είναι όμως προφανές ότι για να είναι πρακτικά χρήσιμος ένας μικροοργανισμός, πρέπει να παράγει προϊόντα, όπως ένζυμα ή αντιβιοτικά, σε μεγάλες ποσότητες. Αυτό επιτυγχάνεται με δύο κυρίως τρόπους: με τη ρύθμιση των συνθηκών της καλλιέργειας και με τη γενετική τροποποίηση των οργανισμών.

Εικόνα 10.6 Βιομηχανική παραγωγή προϊόντων από μικροοργανισμούς.



Παραγωγή ενζύμων

Εκτός από μικρό αριθμό ενζύμων που παράγονται από ζωικά και φυτικά κύτταρα τα περισσότερα ένζυμα παράγονται από μικροοργανισμούς. Οι μικροοργανισμοί έχουν τη δυνατότητα παραγωγής μεγάλων ποσοτήτων ενζύμων.

Η Βιοτεχνολογία με αριθμούς

1000 L καλλιέργειας *Bacillus subtilis* παράγουν σε 12 ώρες 20 Kg ενζύμου.

Τα ένζυμα και οι χυμοί φρούτων

Αν σας λέγανε τα διαλέξετε κάποιο φρούτο που είναι αποδοτικό σε παραγωγή χυμού μάλλον θα διαλέγατε το πορτοκάλι, ίσως το λεμόνι αλλά σε καμία περίπτωση το μήλο. Πώς όμως βλέπουμε στις προθήκες των καταστημάτων πλήθος εμπορικών συσκευασιών με χυμό μήλου, αν η απόδοση των μήλων σε χυμό είναι πολύ μικρή: Την απάντηση τη δίνουν οι μικροοργανισμοί και τα ένζυμα που παράγουν. Θα έχετε παρατηρήσει ότι τα υπερώριμα ή «χαλασμένα» μήλα είναι πολύ μαλακά. Αυτό οφείλεται στη δράση του ενζύμου πεκτινάση, το οποίο παράγεται από μικροοργανισμούς που βρίσκονται στο μήλο. Το ένζυμο αυτό διασπά την πηκτίνη, που είναι συστατικό του κυτταρικού τοιχώματος των φυτικών κυττάρων, διευκολύνοντας την έξοδο του χυμού από το κύτταρο. Επιπρόσθετα, η πηκτίνη συγκρατεί σαν είδος κόλλας τα κύτταρα μεταξύ τους. Η πεκτινάση που παράγεται με μεθόδους βιοτεχνολογίας χρησιμοποιείται για να ξεχωρίζει τα κύτταρα και να διασπά το τοίχωμά τους. Με αυτό τον τρόπο απελευθερώνεται μεγάλη ποσότητα χυμού από τα κύτταρα του μήλου.

Οι μεταλλάξεις βοηθούν στη βελτίωση των απορρυπαντικών

Η σουπτιλισίνη είναι μια πρωτεάση που παράγεται από βακτήρια του γένους *Bacillus* και χρησιμοποιείται ως ένζυμο στις σκόνες πλυσίματος ρούχων. Στα αρχικά στάδια της χρησιμοποίησής της παρατηρήθηκε αναστολή δράσης του ενζύμου παρουσία λευκαντικών. Βρέθηκε ότι το O_2 που απελευθερωνόταν από τα λευκαντικά οξείδωνε το αμινοξύ μεθειονίνη στη θέση 222 της πολυπεπτιδικής αλυσίδας του ενζύμου. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα την παρεμπόδιση δέσμευσης του υποστρώματος στο ενεργό κέντρο του ενζύμου και συνεπώς την αδρανοποίησή του. Με τοποκατευθυνόμενη μετάλλαξη (τεχνική δημιουργίας μεταλλάξεων σε συγκεκριμένο σημείο του γονιδίου) δημιουργήθηκαν 19 τροποποιημένα γονίδια για την παραγωγή σουπτιλισίνης. Στην περίπτωση που η μεθειονίνη στη θέση 222 είχε αντικατασταθεί από κυστεΐνη το ένζυμο ήταν περισσότερο δραστικό, 138% σε σχέση με το αρχικό, αλλά η δράση του αναστελλόταν από τα λευκαντικά. Στην περίπτωση που στη θέση της μεθειονίνης υπήρχε αλανίνη ή σερίνη παρατηρήθηκε μείωση της δραστικότητας του ενζύμου, 53% και 35% αντίστοιχα σε σχέση με το αρχικό, αλλά εξακολουθούσε να είναι δραστικό παρουσία λευκαντικών. Με αντίστοιχη μεθοδολογία έγινε δυνατό να «προστεθούν» στο μόριο του ενζύμου δύο -S-S- δεσμοί, που αυξάνουν τη θερμοσταθερότητά του. Το ένζυμο λοιπόν που παράγεται σήμερα είναι δραστικό σε υψηλή θερμοκρασία παρουσία λευκαντικών.

Jeans κα *Escherichia coli*

Διάφορα ασιατικά είδη του φυτού γένους *Indigo* περιέχουν το γλυκοζίδιο ινδικάνη. Όταν αυτή η ένωση οξειδωθεί, παράγει τη βαφική ύλη ινδικό (λουλάκι), που χρησιμοποιείται σήμερα κυρίως στη βαφή των υφασμάτων jean. Το ινδικό, το οποίο έχει βαθύ κυανό χρώμα που διαρκεί, χρησιμοποιήθηκε στην αρχαιότητα από τους Αιγυπτίους και τους Ρωμαίους για τη βαφή των ενδυμάτων. Στην Ευρώπη χρησιμοποιήθηκε ευρέως τον 16ο αιώνα. Η ανακάλυψη της χημικής δομής του ινδικού το 1883 έδωσε τη δυνατότητα σύνθεσης της βαφικής ύλης με χημικές μεθόδους. Το 1993 επιστήμονες διαπίστωσαν ότι η *Escherichia coli* μπορεί να μετατρέψει τη γλυκόζη αρχικά στο αμινοξύ τρυπτοφάνη και στη συνέχεια σε ινδόλη, ουσία πρόδρομη του ινδικού. Με την ενσωμάτωση στο γενετικό υλικό της *Escherichia coli* γονιδίων από άλλα βακτήρια έγινε δυνατή η παραγωγή ινδικού από γλυκόζη. Ο τρόπος αυτός παραγωγής βοηθά στο να αποφευχθούν τα προβλήματα από τη συνθετική παρασκευή του ινδικού.

Τα περισσότερα από τα ένζυμα που παράγουν οι μικροοργανισμοί είναι **εξωκυτταρικά**, δηλαδή εκκρίνονται έξω από το κύτταρο. Το γεγονός αυτό είναι σημαντικό, γιατί απλοποιεί τη διαδικασία και μειώνει κατά συνέπεια το κόστος απομόνωσης και καθαρισμού των ενζύμων. Επιπρόσθετα, επειδή οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται σε ποικιλία περιβαλλοντικών συνθηκών, είναι δυνατή η παραγωγή ενζύμων που παραμένουν λειτουργικά σε ακραίες συνθήκες, όπως σε υψηλή θερμοκρασία.

Ένζυμα και απορρυπαντικά

Η πρώτη «βιολογική» σκόνη πλυσίματος παρασκευάστηκε το 1913. Τα εμπορικά προϊόντα που κυκλοφορούν σήμερα περιέχουν μικρά ποσά ενζύμων (2-3% σε σύνολο 10% πρωτεΐνης). Τα ένζυμα που περιέχονται, κατά κανόνα πρωτεάσες και λιπάσες, χρησιμεύουν για τη διάσπαση πρωτεϊνικών (π.χ. αίμα) ή λιπαρών (π.χ. λάδι) λεκέδων αντίστοιχα. Η αγορά των απορρυπαντικών απορροφά ένα μεγάλο ποσοστό των παραγόμενων ενζύμων γενικής δράσης.

Ένζυμα όπως κυτταρινάση και αμυλάση χρησιμοποιούνται για το «πετροπλύσιμο» των jeans με αποτέλεσμα τα τελευταία να ξεβάφουν και να μαλακώνουν.

Βιομεταλλουργία

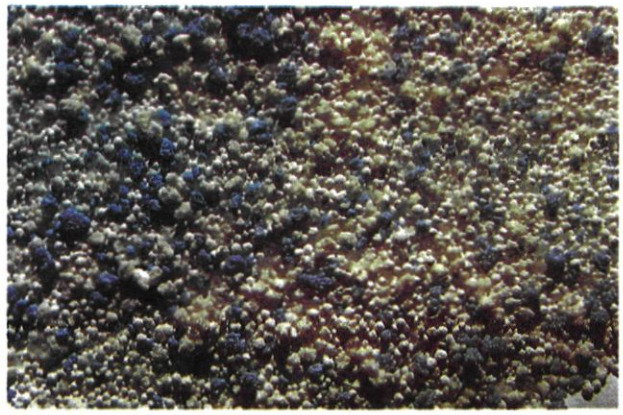
Τα μέταλλα εξορύσσονται από τα μεταλλεύματα με τη χρήση ειδικών φυσικών και χημικών μεθόδων. Η εκμετάλλευση ενός μεταλλεύματος είναι αποδοτική, εάν το μετάλλευμα περιέχει σε μεγάλη συγκέντρωση το μέταλλο που παρουσιάζει οικονομικό ενδιαφέρον και η διαδικασία εξόρυξης και απομόνωσης του μετάλλου είναι οικονομικά συμφέρουσα.

Υπάρχουν βακτήρια που χρησιμοποιούνται για να αυξήσουν την αποδοτικότητα της εκμετάλλευσης ορυκτών τα οποία έχουν χαμηλή συγκέντρωση μετάλλου.

Ο *Thiobacillus ferooxidans*, για παράδειγμα, χρησιμοποιείται για την εξαγωγή χαλκού από μεταλλεύματα όπως ο χαλκοπυρίτης ($CuFeS_2$). Μικροοργανισμοί χρησιμοποιούνται επίσης και για την εξαγωγή άλλων μετάλλων όπως του ουρανίου, του κοβαλτίου και του μολύβδου (Εικόνα 10.8).

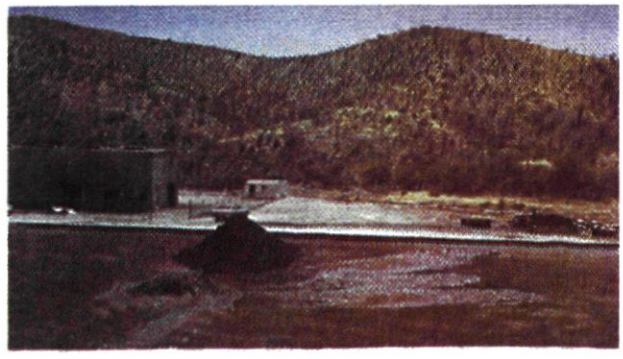
Η χρησιμοποίηση βακτηρίων για την εξόρυξη μετάλλων προσφέρει μια σειρά από πλεονεκτήματα, όπως:

- Επιτρέπει την εκμετάλλευση μεταλλευμάτων με χαμηλή περιεκτικότητα σε μέταλλα.



Εικόνα 10.7 Σκόνη απορρυπαντικού.

- Αποφεύγεται η εξόρυξη σε βάθος, διότι γίνεται δυνατή η έκπλυση των μετάλλων από επιφανειακά στρώματα του κοιτάσματος.
- Συνεισφέρει στην προστασία του περιβάλλοντος επειδή γίνεται σημαντική οικονομία σε ενέργεια. Δίχως τους μικροοργανισμούς είναι απαραίτητη η θέρμανση σε υψηλή θερμοκρασία του ορυκτού και συνεπώς η αύξηση της εκπομπής ρύπων στην ατμόσφαιρα.



Εικόνα 10.8 Έκπλυση μεταλλευμάτων χαμηλής περιεκτικότητας σε Cu με τη χρήση του βακτηρίου *Thiobacillus ferooxidans*. Από την κορυφή του σωρού διοχετεύεται νερό με H_2SO_4 που ξεπλένει το μετάλλευμα. Στο τέλος της διαδρομής το διάλυμα είναι πλούσιο σε Cu.

Περίληψη

Οι μικροοργανισμοί χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία με σκοπό την παραγωγή βιομάζας και σειράς προϊόντων όπως ενζύμων και αντιβιοτικών. Βιομάζα είναι τα κύτταρα των μικροοργανισμών που παράγονται ύστερα από τη ζύμωση σε βιοαντιδραστήρες. Η βιομάζα χρησιμοποιείται κυρίως ως τροφή για τα ζώα, λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς της σε πρωτεΐνες και άλλα συστατικά.

Οι ζυμομύκητες είναι μονοκύτταροι μύκητες που μετατρέπουν, κάτω από αναερόβιες συνθήκες, μονοσακχαρίτες σε αιθανόλη και CO_2. Στην αντίδραση αυτή βασίζεται τόσο το φούσκωμα της ζύμης για την παραγωγή ψωμιού όσο και η παραγωγή αλκοολούχων ποτών. Το κρασί παράγεται όταν τα σάκχαρα που περιέχονται στο μούστο μετατρέπονται σε αιθανόλη. Η μπίρα παράγεται από τη μετατροπή σακχάρων, που περιέχονται σε σπόρους δημητριακών, σε αιθανόλη.

Τα γαλακτομικά προϊόντα παράγονται από τη μετατροπή, με τη βοήθεια συγκεκριμένων οργανισμών, όπως του *Lactobacillus και Streptococcus*, των σακχάρων που περιέχονται στο γάλα, κυρίως σε γαλακτικό οξύ. Οι διαφορές ανάμεσα στα είδη τυριών που παράγονται οφείλονται στα διάφορα είδη μικροοργανισμών που χρησιμοποιούνται.

Οι μικροοργανισμοί παρουσιάζουν σημαντικά πλεονεκτήματα για την παραγωγή ενζύμων. Παράγουν σε σύντομο χρονικό διάστημα μεγάλες ποσότητες ενζύμων, τα περισσότερα από τα οποία είναι εξωκυτταρικά, γεγονός που διευκολύνει τον καθαρισμό τους. Η πλειονότητα των παραγόμενων ενζύμων ανήκει στην κατηγορία των υδρολυτικών ενζύμων όπως οι αμυλάσες, οι πρωτεάσες και οι λιπάσες. Το μεγαλύτερο ποσοστό της παραγωγής ενζύμων διοχετεύεται στη βιομηχανία παραγωγής απορρυπαντικών.

Ερωτήσεις

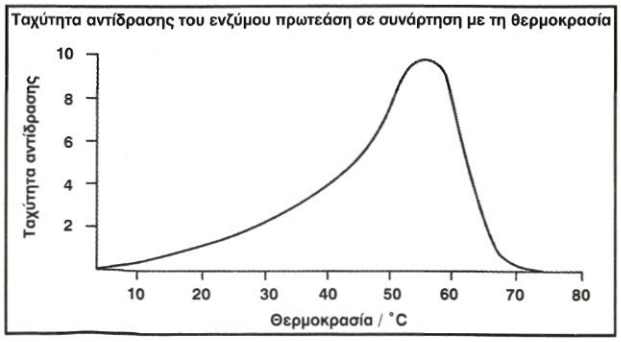
1. Η αλκοολική και η γαλακτική ζύμωση, οι οποίες πραγματοποιούνται με τη βοήθεια μικροοργανισμών, χρησιμοποιούνται για την παραγωγή μιας σειράς προϊόντων.
Να συμπληρώσετε τον παρακάτω πίνακα αναφέροντας δύο προϊόντα για κάθε τύπο ζύμωσης, καθώς και την πρώτη ύλη που χρησιμοποιείται για την παραγωγή τους.

Πρώτη ύλη	Τελικό προϊόν

2. Αναφέρετε τρία συγκριτικά πλεονεκτήματα χρησιμοποίησης μικροοργανισμών για την παραγωγή ενζύμων.

3. Ονομάστε τρεις μικροοργανισμούς που χρησιμοποιούνται σε ζυμώσεις και αναφέρετε τα προϊόντα τους.

4. Η παρακάτω καμπύλη αναπαριστά την ταχύτητα αντίδρασης του ενζύμου πρωτεάση σε συνάρτηση με τη θερμοκρασία. Χρησιμοποιώντας την καμπύλη αυτή προσδιορίστε την άριστη θερμοκρασία για ένα απορρυπαντικό που περιέχει πρωτεάση. Υπολογίστε σε ποιο ποσοστό θα μειωθεί η αποτελεσματικότητά του απορρυπαντικού, εάν χρησιμοποιηθεί σε θερμοκρασία 10 °C μικρότερη από την άριστη.



5. Εντοπίστε ποιες από τις παρακάτω εφαρμογές των μικροοργανισμών περιλαμβάνουν αερόβιες και ποιες αναερόβιες διαδικασίες:
α. Παρασκευή μπίρας
β. Εξαγωγή μετάλλων από μετάλλευμα χαμηλής περιεκτικότητας
γ. Παραγωγή γιαουρτιού
δ. Παραγωγή κρασιού.

6. Να συμπληρώσετε με τις κατάλληλες λέξεις τα κενά:
Η πρώτη εφαρμογή παραγωγής βιομάζας αφορά την παραγωγή ..... Η ..... χρησιμοποιείται κυρίως στην αρτοποιία για την παραγωγή ..... Οι ..... διασπούν τη γλυκόζη που περιέχεται στο αλεύρι και απελευθερώνουν αιθυλική αλκοόλη και ..... Το τελευταίο βοηθά στο ..... του ψωμιού.

7. Πού χρησιμοποιείται η αλκοολική ζύμωση;
α. Για την παραγωγή ψωμιού
β. Για την παραγωγή κρασιού
γ. Για τη βιομηχανική παραγωγή αλκοόλης
δ. Για την παραγωγή μπίρας
ε. Όλα τα παραπάνω.

8. Ποιες είναι οι διαφορές ανάμεσα στον παραδοσιακό τρόπο παραγωγής τυριού και σε αυτόν που χρησιμοποιεί μεθόδους Βιοτεχνολογίας;

Εργασίες - Δραστηριότητες

Οργανώστε επίσκεψη σε εργοστάσιο παραγωγής γαλακτοκομικών προϊόντων. Ύστερα από την ολοκλήρωση της επίσκεψης ετοιμάστε και παρουσιάστε διάγραμμα ροής, που θα περιγράφει τα στάδια παραγωγής γιαουρτιού.

Οργανώστε επίσκεψη σε οινοποιείο ή σε εργοστάσιο παραγωγής μπίρας. Συγκεντρώστε πληροφορίες για τον τρόπο παραγωγής τους. Ύστερα από την ολοκλήρωση της επίσκεψης ετοιμάστε και παρουσιάστε ένα διάγραμμα ροής, που θα περιγράφει τα στάδια παραγωγής κρασιού ή μπίρας.

Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στην προστασία του περιβάλλοντος

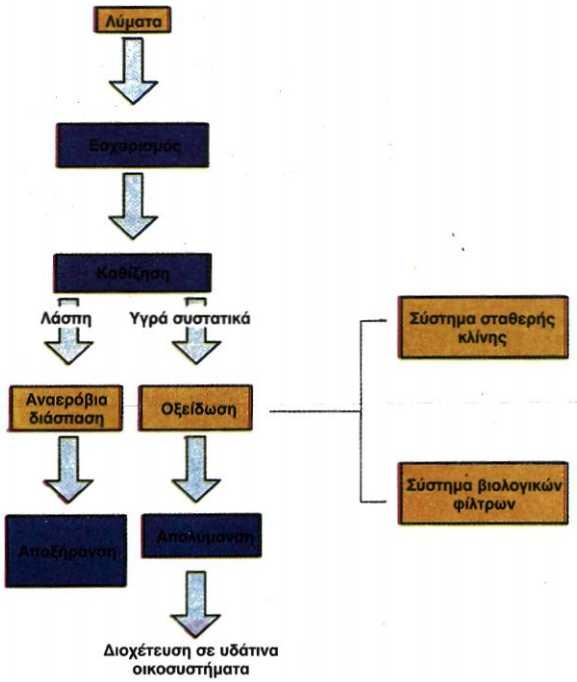
Καθαρισμός παραλίας από πετρελαιοκηλίδα από το ναυάγιο του Exxon Valdez

κεφάλαιο

11

11. Εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας στην προστασία του περιβάλλοντος

Όλα τα μηνύματα που «εκπέμπει» η φύση γύρω μας αποτελούν διαμαρτυρία για το βίαιο τρόπο με τον οποίο τη χρησιμοποιεί ο άνθρωπος. Οι εικόνες που βλέπουμε καθημερινά, όπως τα ναυάγια πετρελαιοφόρων, τα δέντρα που αργοπεθαίνουν λόγω της όξινης βροχής, οι τόνοι των σκουπιδιών γύρω από τις πόλεις και η ρύπανση της ατμόσφαιρας που επικρατεί μέσα σ' αυτές, μιλούν από μόνες τους. Επιπλέον, πρέπει να σημειώσουμε ότι η ρύπανση του περιβάλλοντος δε γνωρίζει σύνορα. Είναι χαρακτηριστικό ότι υπάρχει μια «ανταλλαγή ρύπανσης» μεταξύ των κρατών. Για τους λόγους αυτούς όλοι πλέον αντιλαμβάνονται ότι η εποχή όπου το ενδιαφέρον ήταν στραμμένο στην άνευ όρων βιομηχανική ανάπτυξη, έχει περάσει χωρίς επιστροφή. Σήμερα οι σύγχρονες κοινωνίες προσπαθούν να μειώσουν τη ρύπανση αλλά και να αξιοποιήσουν, όσο αυτό είναι δυνατό, τα απόβλητα του τεχνολογικού μας πολιτισμού. Εδώ ακριβώς καλείται να βοηθήσει η Βιοτεχνολογία: να βρει αποτελεσματικές μεθόδους ανακύκλωσης και επεξεργασίας των λυμάτων και των στερεών απορριμμάτων, ή να διασπάσει με «βιολογικό» τρόπο τις πετρελαιοκηλίδες που αφανίζουν κάθε ίχνος ζωής σε μεγάλες θαλάσσιες ή παράκτιες περιοχές.



Εικόνα 11.1 Διαγραμματική απεικόνιση της διαδικασίας επεξεργασίας λυμάτων.

Επεξεργασία λυμάτων και αποβλήτων

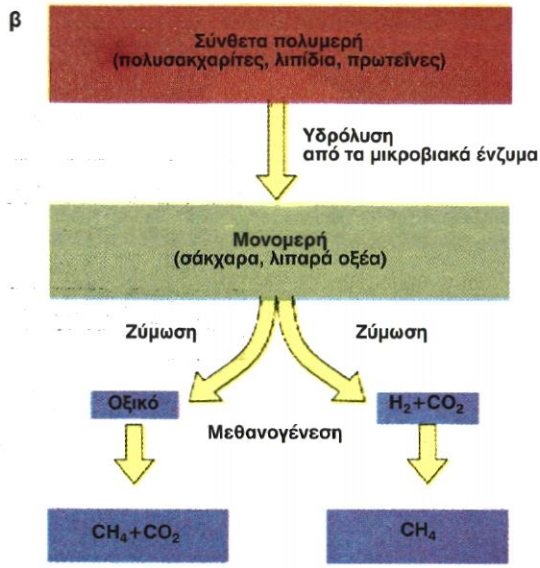
Η επεξεργασία των λυμάτων και των βιομηχανικών αποβλήτων αποτελεί την πιο διαδεδομένη βιοτεχνολογική διεργασία των βιομηχανικά ανεπτυγμένων κοινωνιών, επειδή ακριβώς σε αυτές, δημιουργούνται σε τεράστιες ποσότητες.

Τα αστικά **λύματα** αποτελούνται από ανθρώπινα εκκρίματα του μεταβολισμού καθώς και από νερό που έχει χρησιμοποιηθεί στις καθημερινές οικιακές χρήσεις. Η μέση ποσότητα λυμάτων που αποχετεύει ο άνθρωπος την ημέρα εξαρτάται από πολλούς παράγοντες, μεταξύ των οποίων είναι η αφθονία ή η έλλειψη νερού στο σπίτι και στην περιοχή, το κόστος του νερού και το πολιτιστικό επίπεδο. Στα λύματα υπάρχουν οργανικές ενώσεις όπως πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και λίπη που συνυπάρχουν με τα προϊόντα διάσπασής τους. Τα λύματα περιέχουν επίσης πολλούς μικροοργανισμούς που αναπτύσσονται ταχύτατα λόγω της ύπαρξης οργανικών ουσιών. Σε αυτά συναντώνται ιοί, βακτήρια, φύκη, μύκητες πρωτόζωα μέχρι και θηλαστικά (ποντίκια, αρουραίοι).

Τα **απόβλητα** προέρχονται από τις βιομηχανίες και αποτελούνται συνήθως από νερό που έχει επιβαρυνθεί με παραπροϊόντα της παραγωγικής διαδικασίας. Η ποσότητα και η σύστασή τους ποικίλει ανάλογα με τα προϊόντα που παράγει κάθε εργοστάσιο και την τεχνολογία που χρησιμοποιεί.

Οι μέθοδοι κατεργασίας λυμάτων και αποβλήτων διαφέρουν, ο κύριος στόχος όμως όλων είναι η διάσπαση των οργανικών ουσιών και η μετατροπή τους σε ασφαλείς μη τοξικές ουσίες που μπορούν να διοχετευθούν σε ποταμούς και θάλασσες. Ο παλαιότερος τρόπος απαλλαγής από τα αστικά λύματα ήταν η υπεδάφια διάθεσή τους σε απορροφητικούς βόθρους, εφόσον εξασφαλίζεται η προστασία των πηγών υδροληψίας και των υπόγειων υδάτων.

Η συσσώρευση μεγάλων ποσοτήτων λυμάτων και αποβλήτων στις βιομηχανικά ανεπτυγμένες κοινωνίες δημιούργησε την ανάγκη διαφορετικού τρόπου επεξεργασίας. Ο νέος τρόπος επεξεργασίας πρέπει να δίνει τη δυνατότητα καθαρισμού μεγάλης ποσότητας υλικού σε σύντομο χρονικό διάστημα σε κατάλληλα διαμορφωμένους χώρους. Έτσι δημιουργήθηκαν οι **μονάδες βιολογικού καθαρισμού** όπου ο καθαρισμός βασίζεται σε φυσικές, βιολογικές και φυσικοχημικές μεθόδους. Στις βιολογικές μεθόδους περιλαμβάνεται η χρήση ενζύμων και μικροοργανισμών, με τη βοήθεια



Εικόνα 11.2 α. Δεξαμενή αναερόβιας επεξεργασίας λυμάτων β. Συμμετοχή των μικροοργανισμών στην αναερόβια διάσπαση των λυμάτων. Το τελικό προϊόν της διάσπασης είναι το μεθάνιο (βιοαέριο).

των οποίων προκαλείται η διάσπαση των οργανικών ουσιών.

Η τυπική διαδικασία που ακολουθείται στις περισσότερες μονάδες βιολογικού καθαρισμού περιλαμβάνει τα ακόλουθα στάδια (Εικόνα 11.1):

- **πρωτογενής επεξεργασία**, κατά την οποία γίνεται απομάκρυνση με φυσικές μεθόδους, όπως με **εσχαρισμό** και **διήθηση** των στερεών συστατικών μεγάλου μεγέθους που μπορεί να δημιουργήσουν προβλήματα στην περαιτέρω διαδικασία. Ακολουθεί καθίζηση για αρκετές ώρες και η λάσπη που δημιουργείται από τα υλικά που καθιζάνουν αποσυντίθεται και μετά από κατάλληλη επεξεργασία χρησιμοποιείται συνήθως ως λίπασμα.
- **δευτερογενής επεξεργασία**, κατά την οποία προκαλείται ελάττωση της ποσότητας των οργανικών ουσιών των λυμάτων και αποβλήτων σε τέτοιο βαθμό ώστε να μπορούν να διοχετευτούν σε ποταμούς και θάλασσες χωρίς να δημιουργείται πρόβλημα ρύπανσης και μόλυνσης του υδάτινου περιβάλλοντος. Στη δευτερογενή επεξεργασία η διάσπαση των οργανικών ουσιών προκαλείται από κατάλληλους μικροοργανισμούς, όπως περιγράφεται στη συνέχεια.
- **τριτογενής επεξεργασία**, κατά την οποία γίνεται φυσικοχημική επεξεργασία με σκοπό τη δραστική ελάττωση των ανόργανων θρεπτικών συστατικών κυρίως του φωσφόρου και των νιτρικών αλάτων. Στα λύματα που έχουν υποστεί και τριτογενή επεξεργασία, δεν μπορούν να αναπτυχθούν πλέον μικροοργανισμοί.

Η μέθοδος του βιολογικού καθαρισμού εφαρμόζεται σε αστικά λύματα, βιομηχανικά απόβλητα, καθώς και για την απορρύπανση λιμνών και ποταμών. Η εφαρμογή και των τριών επεξεργασιών αποτελεί μια ολοκληρωμένη μέθοδο επεξεργασίας των λυμάτων και αποβλήτων. Η τριτογενής όμως επεξεργασία είναι πολύ δαπανηρή και γι' αυτό δεν εφαρμόζεται σε όλες τις μονάδες.

Στη συνέχεια γίνεται αναφορά στο μέρος της διαδικασίας του βιολογικού καθαρισμού που αφορά τη διάσπαση των οργανικών ουσιών από μικροοργανισμούς, δηλαδή στη δευτερογενή επεξεργασία. Οι βιοχημικές αντιδράσεις που πραγματοποιούνται είναι είτε αερόβιες, είτε αναερόβιες.

Αερόβια διάσπαση

Κατά την αερόβια διαδικασία (Εικόνα 11.3), η οργανική ύλη μετατρέπεται σε διοξείδιο του άνθρακα, αμμωνία, νιτρικά, φωσφορικά και θειικά άλατα με τη βοήθεια μικροοργανισμών. Οι μικροοργανισμοί αυτοί κινούνται ελεύθερα σε ένα σύστημα δεξαμενών με ταυτόχρονη χορήγηση αέρα ή οξυγόνου. Πιο κοινά είναι τα συστήματα όπου το υγρό κυρίως κλάσμα διοχετεύεται σε μια μεγάλη δεξαμενή, την πρωτοβάθμια δεξαμενή, η οποία δέχεται παροχή αέρα (Εικόνα 11.3γ). Εκεί χρησιμοποιούνται κυρίως βακτήρια που σχηματίζουν βλέννη (κυρίως *Zoogloea ramigera)* τα οποία έχουν την ιδιότητα να σχηματίζουν συσσωματώματα (Εικόνα 11.4). Τα συσσωματώματα αυτά αποτελούν το υπόστρωμα πάνω στο οποίο προσκολλώνται πρωτόζωα και μικρά ζώα. Μερικές φορές συνυπάρχουν νηματοειδή βακτήρια και μύκητες.

Το υγρό που περιέχει τα συσσωματώματα των βακτηρίων μεταφέρεται σε μια δεύτερη δεξαμενή (δευτεροβάθμια δεξαμενή βιομάζας), όπου τα συσσωματώματα καθιζάνουν. Έτσι, η μικροβιακή βιομάζα που παράγεται, καθιζάνει ενώ έχει καταναλώσει μεγάλη ποσότητα οργανικής ύλης. Κάποια ποσότητα συσσωματωμάτων επιστρέφει στην πρωτοβάθμια δεξαμενή αερισμού και χρησιμεύει για να γίνεται εκ νέου εμβολιασμός (Εικόνα 11.3).

Στις αερόβιες συνθήκες επενεργούν κυρίως βακτήρια, φύκη, ιοί, πρωτόζωα και μύκητες. Τα τελικά προϊόντα είναι διοξείδιο του άνθρακα, νερό (υγρό κλάσμα), και ουσίες που δεν αποσυντίθενται (λάσπη).

Το υγρό κλάσμα, που αποτελείται από τα καθαρισμένα πλέον λύματα μεταφέρεται για να υποστεί τριτογενή επεξεργασία. Κατά την τριτογενή επεξεργασία, όπως αναφέρθηκε, θα ελαττωθεί η συγκέντρωση των ανόργανων θρεπτικών συστατικών, και με την προσθήκη χλωρίου (χλωρίωση) θα απαλλαγούν από τους μικροοργανισμούς.

Το ίζημα, που αποτελείται από συσσωματώματα και από άλλες ουσίες που δεν αποσυντέθηκαν, μεταφέρεται σε μεγάλες κλειστές δεξαμενές, τους βιοαντιδραστήρες, όπου θα υποστεί αναερόβια διάσπαση.

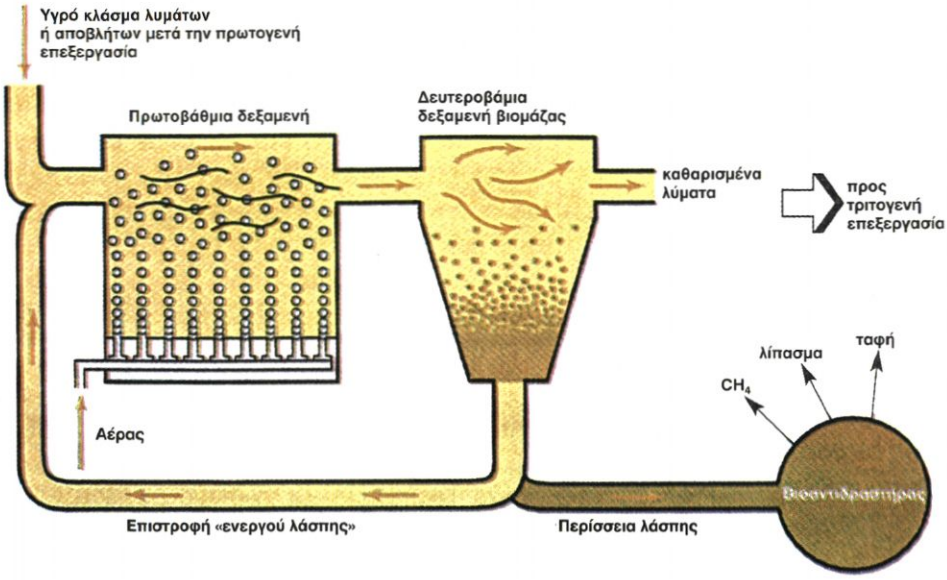
Αναερόβια διάσπαση

Η αναερόβια διάσπαση είναι μια πολύπλοκη σειρά αντιδράσεων διάσπασης και ζύμωσης που πραγματοποιούνται από πολλά διαφορετικά είδη βακτηρίων, μεταξύ των οποίων κυριαρχούν τα είδη *Clostridium.* Η διαδικασία γίνεται σε μεγάλες κλειστές δεξαμενές που ονομάζονται **βιοαντιδραστήρες** και απαιτεί τη συνδυασμένη δράση πολλών διαφορετικών μικροοργανισμών (Εικόνα 11.2α). Στην Εικόνα 11.2β φαίνονται οι αντιδράσεις που πραγματοποιούνται κατά την αναερόβια διάσπαση.

Τα οργανικά μακρομόρια διασπώνται αρχικά από διάφορα ένζυμα, όπως πρωτεάσες και λιπάσες σε διαλυτά συστατικά. Αυτά με κατάλληλη ζύμωση μετατρέπονται σε ένα μείγμα λιπαρών οξέων, H_2 και CO_2, ενώ τα λιπαρά οξέα μετατρέπονται περαιτέρω σε οξικό οξύ, CO_2 και H_2. Όλες αυτές οι χημικές ενώσεις αποτελούν θρεπτικά συστατικά για μεθανογόνα βακτήρια, όπως το *Methanobacterium*, που είναι ικανά να διασπάσουν το οξικό οξύ σε μεθάνιο και CO_2, καθώς και να συνθέσουν μεθάνιο από CO_2 και H_2. Τα κύρια λοιπόν προϊόντα της αναερόβιας κατεργασίας λυμάτων και αποβλήτων είναι το μεθάνιο και το CO_2. Το μεθάνιο (βιοαέριο) είναι ένα χρήσιμο καύσιμο που μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή ενέργειας στο σταθμό του βιολογικού καθαρισμού.

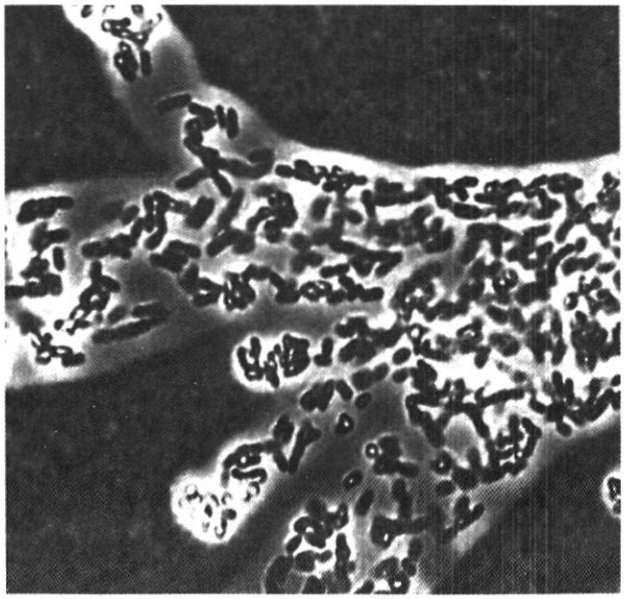
Το ίζημα μπορεί να χρησιμοποιηθεί, μετά από κατάλληλη επεξεργασία, ως λίπασμα ενώ οι ουσίες που δεν αποσυντίθενται αποτίθενται σε κατάλληλα διαμορφωμένους χώρους.

Η επιλογή των οργανισμών που θα χρησιμοποιηθούν γίνεται συνήθως από το χώμα περιοχών που έχουν μολυνθεί για αρκετό χρονικό διάστημα από τις συγκεκριμένες ουσίες που θέλουμε να διασπασθούν. Στη συνέχεια δημιουργούνται τροποποιημένοι τύποι των οργανισμών στο εργαστήριο με ιδιότητες που βοηθούν στη διάσπαση, όπως ταχύτερη ανάπτυξη ή ταχύτερη αποικοδόμηση. Η δημιουργία τους γίνεται με συνδυασμό τεχνικών κλασικής Γενετικής και τεχνολογίας ανασυνδυασμένου DNA.



Εικόνα 11.3 Δευτερογενής επεξεργασία λυμάτων: Διαγραμματική απεικόνιση διάσπασης λυμάτων σε συστήματα δεξαμενών.

Εικόνα 11.4 Φωτογραφία από οπτικό μικροσκόπιο της *Zoogloea ramigera* μικροοργανισμού που συμμετέχει στην επεξεργασία των λυμάτων.



Βιοτεχνολογικοί τρόποι για τη διάσπαση των πετρελαιοκηλίδων

Οι ωκεανοί καταλαμβάνουν περισσότερο από 70% της επιφάνειας της Γης. Εκτός από την οικολογική τους σημασία, κρύβουν έναν απίθανο πλούτο κρυμμένης γνώσης και προϊόντων χρήσιμων για τον άνθρωπο. Τεράστια είναι επίσης και η ποικιλία των πάσης φύσεως μικροοργανισμών που ζουν στις θάλασσες. Την τελευταία δεκαετία οι θαλάσσιοι μικροοργανισμοί αποδείχτηκαν μια σημαντική και ανεξερεύνητη πηγή για τη Βιοτεχνολογία.

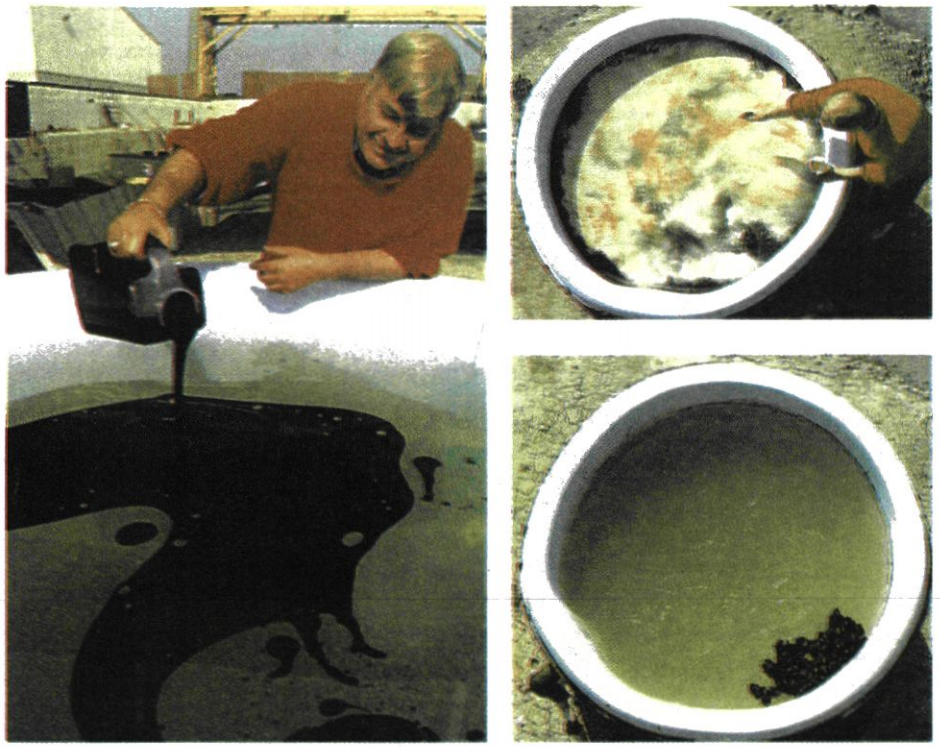
Παράλληλα, το θαλάσσιο οικοσύστημα πέφτει καθημερινά θύμα μαζικής και καταστροφικής ρύπανσης. Κύρια αιτία αποτελεί το **πετρέλαιο**, το οποίο καταλήγει στις θάλασσες μέσω συγκεκριμένων δραστηριοτήτων του ανθρώπου. Έτσι, μεγάλο μέρος από τα λιπαντικά των βιομηχανιών, τα απόβλητα και τις διαρροές των διυλιστηρίων, τις αποπλύσεις των δεξαμενών των πετρελαιοφόρων καταλήγουν στη θάλασσα. Επίσης, διαρροές από πετρελαιοπηγές, την ακτοπλοΐα και τα δεξαμενόπλοια καθώς και τα ναυάγια των πετρελαιοφόρων πλοίων επιβαρύνουν τους ζωντανούς οργανισμούς σε τεράστιες θαλάσσιες και παράκτιες εκτάσεις (Εικόνα 11.6).

Τα αποτελέσματα της πετρελαϊκής ρύπανσης φαίνονται ανάγλυφα στα πτηνά με τα καλυμμένα από πίσσα φτερά και αφορούν κυρίως:

- τον αφανισμό των γόνων των ψαριών στις περιοχές με ρύπανση,
- τη μείωση του φυτοπλαγκτού, επειδή το ηλιακό φως δυσκολεύεται να διαπεράσει το στρώμα των πετρελαιοκηλίδων,
- τη μεταφορά τοξικών ουσιών στον άνθρωπο από τα αλιευόμενα ψάρια, τα οποία τρέφονται κοντά στις περιοχές με ρύπανση, καθώς και
- τις οικονομικές καταστροφές στην αλιεία.

Είναι χαρακτηριστικό ότι η μέχρι πρότινος χρήση τοξικών ή μη απορρυπαντικών για τη διάλυση των πετρελαιοκηλίδων επιδείνωνε την εικόνα της καταστροφής εξαφανίζοντας πολλά θαλάσσια είδη. Τα απορρυπαντικά σταματούν τη φυσική βιοδιάσπαση του πετρελαίου, επειδή το μετατρέπουν σε γαλάκτωμα. Το γαλακτωματοποιημένο πετρέλαιο αποτελεί τροφή για κάποιους οργανισμούς και έτσι γίνεται μέρος της τροφικής αλυσίδας στο θαλάσσιο οικοσύστημα.

Τον καταστροφικό «φαύλο κύκλο» της πετρελαϊκής ρύπανσης και της απορρύπανσης μπορεί να διακόψει η ίδια η φύση. Πραγματικά στη διάσπαση των πετρελαιοκηλίδων οι θαλάσσιοι μικροοργανισμοί, μπορούν να κάνουν το θαύμα τους: Αφού εξατμιστούν τα πτητικά κλάσματα του πετρελαίου, οι οργανικές χημικές του ενώ-



Εικόνα 11.5 Διάσπαση πετρελαιοκηλίδων με τη βοήθεια βακτηρίων. Σε πέντε εβδομάδες έχει διασπασθεί το 70% μιας κηλίδας, διαδικασία που στη φύση θα διαρκούσε 55 χρόνια!

σεις διασπώνται από βακτήρια και μύκητες που ανήκουν σε περισσότερα από 70 γένη με αποτέλεσμα να μεταβολίζονται σε διοξείδιο του άνθρακα. Η διαδικασία αυτή είναι ιδιαίτερα αργή, ενώ οι πηγές ρύπανσης δυστυχώς αυξάνονται. Η ταχύτητα αποικοδόμησης των πετρελαιοκηλίδων από τους μικροοργανισμούς εξαρτάται από μια σειρά άλλων παραγόντων. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται η θερμοκρασία του περιβάλλοντος (το καλοκαίρι αναπτύσσονται τα βακτήρια ευκολότερα λόγω υψηλότερης θερμοκρασίας), η σύσταση του πετρελαίου που ποικίλει ανάλογα με την κατεργασία και την προέλευσή του, η συγκέντρωση του οξυγόνου στο θαλασσινό νερό και η επάρκεια θρεπτικών συστατικών για την ανάπτυξη των βακτηρίων.

Η Βιοτεχνολογία επιδιώκει να επιταχύνει και να βελτιστοποιήσει τη διαδικασία διάσπασης των πετρελαιοκηλίδων με δύο τρόπους:

α. Διευκολύνοντας τα βακτήρια στο απορρυπαντικό τους έργο. Αυτό γίνεται δυνατό εάν προστεθούν τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά όπως άζωτο, φωσφόρος και σίδηρος με τα οποία επιτυγχάνεται καλύτερη και ταχύτερη ανάπτυξη των βακτηρίων, δηλαδή κάτι αντίστοιχο με την προσθήκη λιπάσματος στους αγρούς. Η μέθοδος αυτή εφαρμόστηκε για πρώτη φορά μετά τη μεγάλη διαρροή πετρελαίου στην Αλάσκα το 1989 που δημιουργήθηκε από τη βύθιση του δεξαμενόπλοιου Exxon Valdez. Σε μια παραλία μήκους 160 χιλιομέτρων η διάσπαση αυξήθηκε έως 4 φορές με την προσθήκη θρεπτικών συστατικών, σε μια περίοδο 30 ημερών.

β. Προσπαθώντας να εντοπίσει και να απομονώσει νέα στελέχη βακτηρίων με μεγάλη αναπαραγωγική ικανότητα, που να διασπούν το πετρέλαιο, οξειδώνοντας τις ενώσεις του σε διοξείδιο του άνθρακα και νερό. Τέτοια βακτήρια μπορούν να απομονωθούν από τις ίδιες τις περιοχές της ρύπανσης, επειδή επιζούν χρησιμοποιώντας ως τροφή και τους υδρογονάνθρακες από τους οποίους αποτελείται το πετρέλαιο. Τα βακτήρια αυτά συλλέγονται, αναπτύσσονται στο εργαστήριο προκειμένου να αυξηθεί ο αριθμός τους και απελευθερώνονται στο περιβάλλον με προσθήκη κατάλληλων θρεπτικών συστατικών.

Στο εργαστήριο γίνεται προσπάθεια να μελετηθούν και να τροποποιηθούν γενετικά μικροοργανισμοί ώστε να γίνουν ακόμη πιο αποτελεσματικοί στο απορρυπαντικό τους έργο. Δηλαδή να μπορούν να παράγουν νέα ένζυμα με τα οποία μπορεί να διασπούν το πετρέλαιο. Το πρώτο είδος βακτηρίου που κατοχυρώθηκε νομικά με δίπλωμα ευρεσιτεχνίας, το 1980, ήταν ένα βακτήριο που έχει την ικανότητα να διασπά το πετρέλαιο. Τα γενετικά τροποποιημένα βακτήρια πρέπει να είναι γενετικά σταθερά (να έχουν χαμηλή συχνότητα μεταλλάξεων), να μην είναι παθογόνα για τον άνθρωπο και άλλους οργανισμούς και να μην παράγουν τοξικές ουσίες από τη διάσπαση του πετρελαίου. Η σημασία της χρήσης των βακτηρίων για τη διάσπαση πετρελαιοκηλίδων φαίνεται από το γεγονός ότι ορισμένα βακτήρια είναι σε θέση να διασπάσουν το 70% μιας πετρελαιοκηλίδας μέσα σε διάστημα πέντε εβδομάδων, κάτι για το οποίο η φύση από μόνη της θα χρειαζόταν πενήντα πέντε χρόνια! (Εικόνα 11.5).

Εικόνα 11.6 Οι ενυδρίδες της φωτογραφίας ανήκουν στα θύματα της διαρροής 50 εκατομμυρίων λίτρων πετρελαίου του Exxon Valdez. Παρά τις προσπάθειες των επιστημονικών ομάδων, ελάχιστες σώθηκαν.

Περίληψη

Η βασική δύναμη της Βιοτεχνολογίας βρίσκεται στα όσα υπόσχεται να κάνει για την αναβάθμιση του περιβάλλοντος. Παρόλα αυτά η ανάπτυξη βιοτεχνολογικών μεθόδων για την προστασία του περιβάλλοντος έχει προοδεύσει ιδιαίτερα.

Έτσι, υπάρχουν σήμερα στη διάθεσή μας μικροοργανισμοί ιδιαίτερα αποτελεσματικοί στη βιομετατροπή ανακυκλωμένων γεωργικών, κτηνοτροφικών, βιομηχανικών και αστικών λυμάτων και απορριμμάτων. Επίσης η Βιοτεχνολογία έχει αναπτύξει μεθόδους δραστικής διευκόλυνσης των θαλάσσιων μικροοργανισμών στο έργο της διάσπασης των απειλητικών θαλάσσιων πετρελαιοκηλίδων.

Ερωτήσεις

1. Να αναφέρετε τις κύριες συνέπειες της πετρελαϊκής ρύπανσης.

2. Με ποιους τρόπους επιχειρεί η Βιοτεχνολογία να διευκολύνει τα βακτήρια στο απορρυπαντικό τους έργο στην περίπτωση των πετρελαιοκηλίδων;

3. Με ποιους τρόπους νομίζετε ότι η θερμοκρασία επηρεάζει την αποτελεσματικότητα της βιοδιάσπασης των πετρελαιοκηλίδων; Επιλέξτε τη σωστή απάντηση από τις προτάσεις α, β, γ:

α. Σε υψηλές θερμοκρασίες, όπως αυτές των καλοκαιρινών μηνών, τα βακτήρια αναπτύσσονται ευκολότερα.
β. Το καλοκαίρι τα βακτήρια δεν επιζούν λόγω υψηλών θερμοκρασιών.
γ. Τα βακτήρια αναπτύσσονται με σταθερό ρυθμό ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος.

4. Για ποιο λόγο γίνεται προσθήκη σιδήρου, φωσφόρου και αζώτου στις πετρελαιοκηλίδες προκειμένου να επιτευχθεί βιοδιάσπαση;

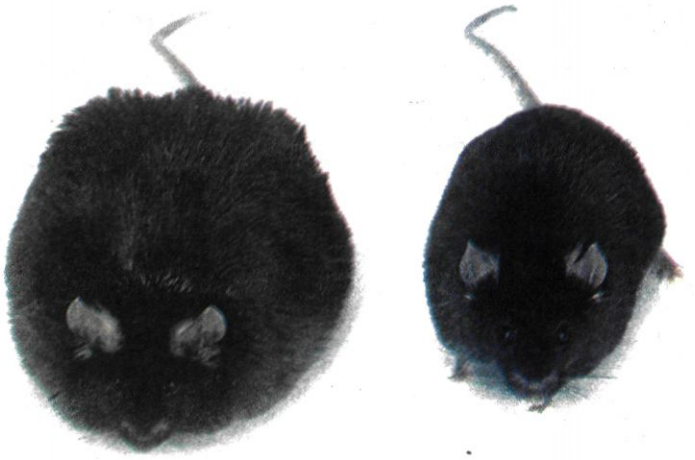
Εργασίες - Δραστηριότητες

Προσπαθήστε να καταρτίσετε έναν, κατά το δυνατόν, πλήρη κατάλογο εκείνων των Πανεπιστημιακών τμημάτων, Τεχνολογικών Εκπαιδευτικών Ιδρυμάτων, βιομηχανικών μονάδων και Φαρμακευτικών Εταιρειών, όπου διεξάγεται βιοτεχνολογική έρευνα στη χώρα μας.
Πολλοί επιστημονικοί και τεχνολογικοί χώροι τέτοιου είδους διαθέτουν σελίδες στο Internet. Όσοι από εσάς είναι εξοικειωμένοι με τις λεγόμενες Μηχανές Αναζήτησης στον κυβερνοχώρο, θα μπορέσουν να συλλέξουν στοιχεία πληκτρολογώντας λήμματα όπως: Biotechnology AND Greece κτλ. Επιπλέον, στις ιστοσελίδες του Υπουργείου Παιδείας, Γεωργίας, της Γενικής Γραμματείας Έρευνας και Τεχνολογίας θα βρείτε περισσότερες πληροφορίες.
Σας προτείνουμε στην παρουσίαση της έρευνας που κάνατε να σημειώσετε τη θέση των βιοτεχνολογικών δραστηριοτήτων τις οποίες βρήκατε επάνω στον γεωγραφικό χάρτη της Ελλάδας. Στον ίδιο χάρτη εντοπίστε τις αγροτικές και τις βιομηχανικές περιοχές και βγάλτε τα συμπεράσματά σας. Μη διστάσετε να ζητήσετε επιπλέον πληροφορίες επικοινωνώντας με τα ίδια τα κέντρα βιοτεχνολογικής έρευνας.

Βιοηθική: Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα -ηθικά και κοινωνικά διλήμματα της Γενετικής Μηχανικής

κεφάλαιο

12



Τα γενετικά τροποποιημένα ποντίκια της φωτογραφίας, στα οποία «απουσιάζει» το γονίδιο της λεπτίνης, χρησιμοποιούνται σε πειράματα μελέτης απώλειας βάρους

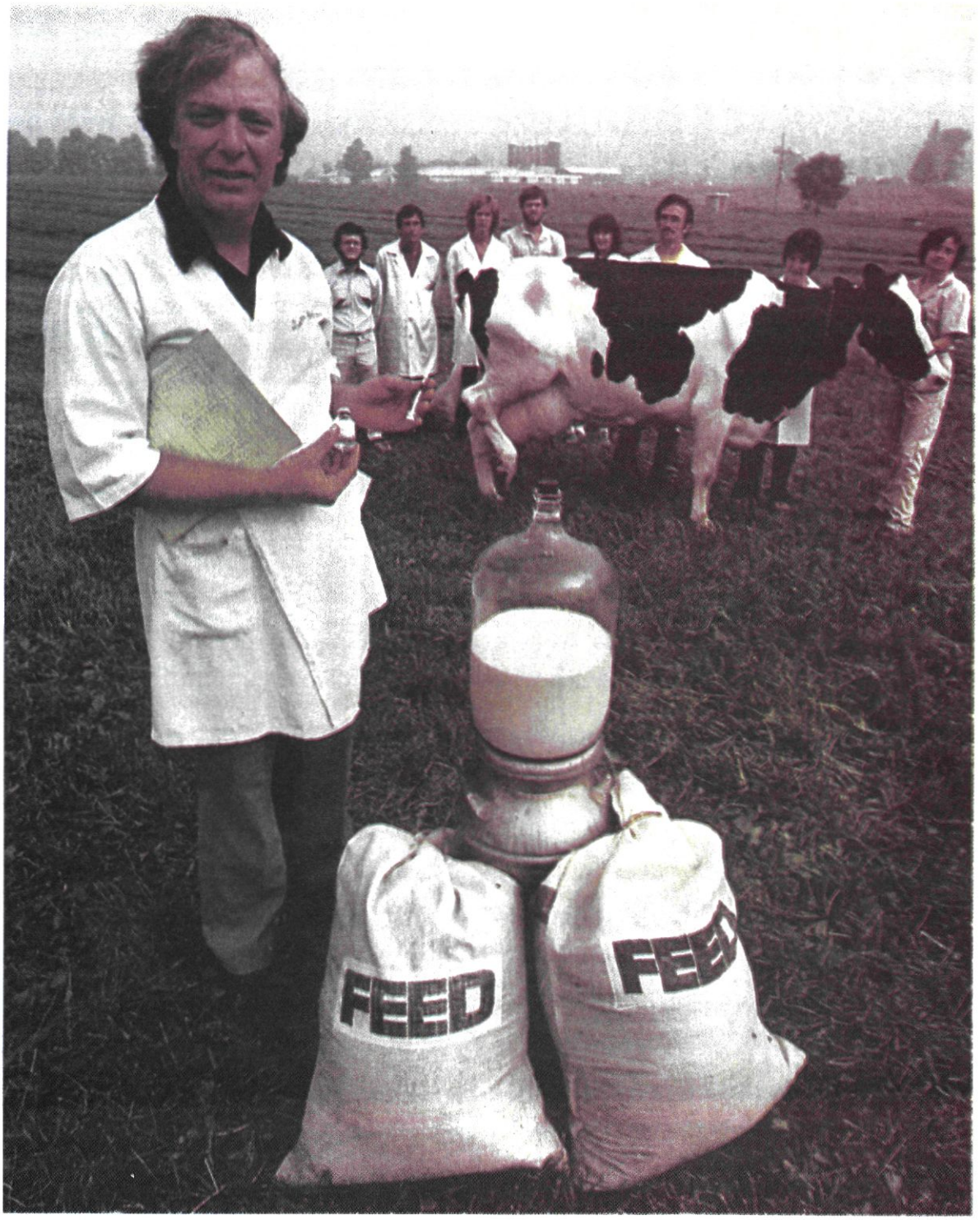
12. Βιοηθική: Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα - ηθικά και κοινωνικά διλήμματα της Γενετικής Μηχανικής

Η ανάπτυξη της Γενετικής Μηχανικής συνοδεύτηκε από μία σειρά προβληματισμών, οι οποίοι αφορούσαν τις συνέπειες που συνοδεύουν την ανάπτυξη του νέου αυτού κλάδου της Βιολογίας. Στις αρχές της δεκαετίας του '70 τα αρχικά διλήμματα είχαν εστιαστεί στο αν θα έπρεπε να κλωνοποιηθούν ογκογονίδια από τους ιούς στην *E. coli.* Υπήρξε η υποψία ότι στην περίπτωση που τα γενετικά τροποποιημένα βακτήρια διέφευγαν από το εργαστήριο, θα μπορούσαν να μεταφέρουν τα ογκογονίδια στα βακτήρια *E. coli*, που ζουν στο ανθρώπινο έντερο. Υπήρξε επίσης έντονος προβληματισμός σχετικά με το αν το ανθρώπινο DNA και το DNA των άλλων θηλαστικών περιείχε πιθανά ογκογονίδια, τα οποία θα μπορούσαν να μεταφερθούν από οργανισμό σε οργανισμό κατά τα πειράματα Γενετικής Μηχανικής. Το Φεβρουάριο του 1975 μια ομάδα από εκατό μοριακούς βιολόγους σε μια συνάντηση στην Καλιφόρνια αποφάσισαν ότι θα έπρεπε να τεθούν ορισμένοι περιορισμοί σχετικά με την έρευνα στον τομέα της Γενετικής Μηχανικής, ώσπου να καθοριστεί με ακρίβεια ο βαθμός επικινδυνότητας των πειραμάτων αυτών. Αυτό ήταν ένα φρένο στο συγκεκριμένο πεδίο έρευνας που τέθηκε από τους ίδιους τους ερευνητές και όχι από κάποιο διοικητικό φορέα. Έτσι η έρευνα στους ογκογόνους ιούς σταμάτησε. Το 1976 συγκροτήθηκε από την αμερικανική κυβέρνηση Συμβουλευτική Επιτροπή, στην οποία συμμετείχαν και άνθρωποι που είχαν πάρει μέρος στη συνάντηση της Καλιφόρνιας. Παρόμοιες επιτροπές συγκροτήθηκαν στην Ευρώπη. Ο ρόλος της επιτροπής αυτής ήταν η θέσπιση κανόνων για τη διεξαγωγή πειραμάτων Γενετικής Μηχανικής. Δύο χρόνια μετά τη διακοπή της έρευνας στους ογκογόνους ιούς, κατά τη διάρκεια των οποίων καθορίστηκαν με αυστηρότητα οι συνθήκες ασφαλούς διεξαγωγής των πειραμάτων, άρχισε ξανά η έρευνα στους ιούς αλλά και σε άλλους οργανισμούς. Τα αυστηρά μέτρα ασφαλείας των πειραμάτων εφαρμόζονται έως σήμερα. Πρέπει όμως να αναφερθεί ότι υπάρχουν διαφορετικές απόψεις, κυρίως ανάμεσα στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης και τις Η.Π.Α., για το πόσο αυστηροί πρέπει να είναι οι κανόνες για την ανάπτυξη της Γενετικής Μηχανικής. Σε γενικές γραμμές, η νομοθεσία που αφορά τα πειράματα και τις εφαρμογές της Γενετικής Μηχανικής είναι περισσότερο αυστηρή στην Ευρώπη από ό,τι στις Η.Π.Α.

Στις αρχές της δεκαετίας του '80 υπήρξε μια εκρηκτική ανάπτυξη εφαρμογών των τεχνικών της Γενετικής Μηχανικής. Διάφορες εταιρίες άρχισαν να επενδύουν δισεκατομμύρια δολάρια όχι μόνο στη Γενετική Μηχανική αλλά και σε άλλες εφαρμογές, οι οποίες βασίζονται στη Μοριακή Βιολογία. Έτσι γεννήθηκε η Βιοτεχνολογία που έκανε δυνατή την επιστημονική και βιομηχανική αξιοποίηση των δυνατοτήτων των ζωντανών οργανισμών. Η Βιοτεχνολογία είναι μια ραγδαία εξελισσόμενη επιστήμη. Καθημερινά αναπτύσσονται νέες εφαρμογές που αφορούν τη διάγνωση ασθενειών, την παραγωγή φαρμάκων και εμβολίων, τη γονιδιακή θεραπεία, καθώς και τη γεωργία, την κτηνοτροφία και το περιβάλλον. Είναι όμως προφανές ότι η ανάπτυξη της Βιοτεχνολογίας φέρνει στην επιφάνεια μία σειρά από ερωτήματα, που αφορούν την ασφάλεια και την υγεία του ανθρώπου, την προστασία του περιβάλλοντος, την προστασία των καταναλωτών και των αγροτών, την ποιότητα ζωής των ζώων καθώς και μία σειρά από ηθικά και ανθρωπιστικά προβλήματα.

Επηρεάζουν οι γενετικά τροποποιημένοι οργανισμοί την υγεία του ανθρώπου;

Ένα από τα βασικά θέματα που αφορούν την ασφάλεια των προϊόντων σχετίζεται με τα πλασμίδια που χρησιμοποιούνται ως φορείς για τη γενετική τροποποίηση των φυτικών ή ζωικών οργανισμών. Τα πλασμίδια αυτά περιέχουν εκτός από το γονίδιο που βοηθά στη βελτίωση των ιδιοτήτων των οργανισμών, και γονίδια ανθεκτικότητας σε ορισμένα αντιβιοτικά, κυρίως στην καναμυκίνη. Τα γονίδια εισέρχονται μαζί με τα πλασμίδια στους οργανισμούς και τους τροποποιούν. Το πρώτο προϊόν που κυκλοφόρησε στην αγορά ήταν μία ποικιλία τομάτας. Οι τομάτες λοιπόν αυτές, όπως όλα τα γενετικά τροποποιημένα τρόφιμα, περιέχουν γονίδια ανθεκτικότητας σε αντιβιοτικά. Το ερώτημα που προκύπτει είναι μήπως το γονίδιο μπορεί να περάσει από την τομάτα στα βακτήρια *E. coli*, που βρίσκονται στο έντερο, και να τα κάνει ανθεκτικά στην καναμυκίνη και στα συγγενή αντιβιοτικά. Επιπλέον, επειδή τα βακτήρια αποβάλλονται από το έντερο στο περιβάλλον, τα γονίδια ανθεκτικότητας θα μπορούσαν να διασπαρούν σε άλλα πιθανόν βλαβερά βακτήρια του περιβάλλοντος. Τα τελευταία, αν προσβάλλουν τον άνθρωπο, δεν θα μπορούν να καταπολεμηθούν επειδή θα είναι ανθεκτικά στα αντιβιοτικά. Στην πραγματικότητα βέβαια, είναι πολύ μεγαλύτερες οι πιθανότητες το γονίδιο ανθεκτικότητας στα αντι-



Εικόνα 12.1 Με τη χρήση αυξητικής ορμόνης οι αγελάδες παράγουν καθημερινά περισσότερο από 35 L γάλακτος.

βιοτικά, όπως και όλο το DNA της τομάτας, να διασπαστεί στο πεπτικό μας σύστημα ή να μη μεταφερθεί σε άλλους οργανισμούς. Επιπλέον, το γονίδιο ανθεκτικότητας στην καναμυκίνη υπάρχει ήδη σε αρκετούς οργανισμούς στη φύση. Οι ερευνητές κάνουν μεγάλες προσπάθειες, για να απομακρύνουν τα γονίδια της ανθεκτικότητας μετά τη γενετική τροποποίηση των οργανισμών. Το 1996, η Ευρωπαϊκή Ένωση επέτρεψε την εισαγωγή γενετικά τροποποιημένου καλαμποκιού από τις Η.Π.Α.

Οι εταιρίες που παράγουν γενετικά τροποποιημένα προϊόντα επενδύουν τεράστια ποσά χρημάτων στην έρευνα και ανάπτυξη, για να παραγάγουν ασφαλή προϊόντα. Για παράδειγμα, μία εταιρία που παρασκευάζει το φάρμακο AAT (α_1-αντιθρυψίνη), για το εμφύσημα, κάνει εισαγωγή προβάτων από τη Νέα Ζηλανδία, προκειμένου να εξασφαλίσει ότι δεν πάσχουν από σπογγώδη εγκεφαλίτιδα, ασθένεια που καταστρέφει τα νευρικά κύτταρα στον εγκέφαλο των ζώων. Οι διαγονιδιακές αίγες, που χρησιμοποιούνται από μία άλλη εταιρία για την παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων, διατρέφονται με τροφή που δεν περιέχει ζωικά ή φυτικά παράσιτα. Γίνεται δηλαδή προσπάθεια να ελαχιστοποιηθεί η πιθανότητα μεταφοράς ασθενειών στον άνθρωπο από τα γενετικά τροποποιημένα προϊόντα. Θα μπορούσε να υποθέσει κανείς ότι για τα προϊόντα αυτά λαμβάνονται αυστηρότερα μέτρα ασφαλείας από ότι για πολλά παραδοσιακά προϊόντα.

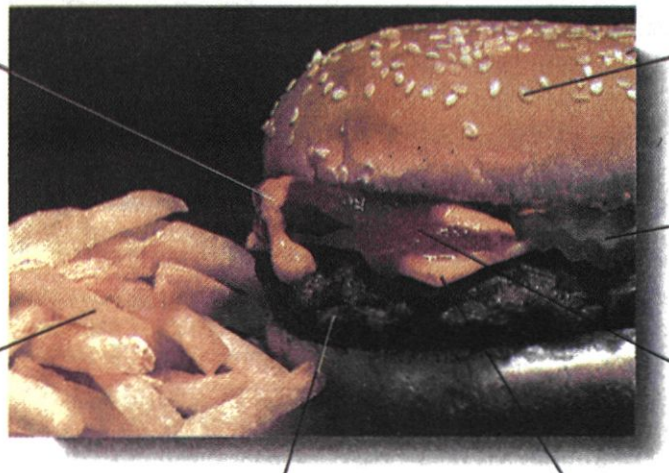
Επιπρόσθετα, τα γενετικά τροποποιημένα προϊόντα ενέχουν κινδύνους επειδή τα γονίδια που εισάγονται σε αυτά μπορεί να προκαλέσουν αλλεργικές αντιδράσεις. Έρευνα του Πανεπιστημίου της Νεμπράσκα (Η.Π.Α) έδειξε ότι σπόροι σόγιας που περιέχουν γονίδια από βραζιλιάνικα καρύδια δημιούργησαν οξύτατα προβλήματα υγείας σε άτομα αλλεργικά στα βραζιλιάνικα καρύδια.

Δημιουργείται λοιπόν η ανάγκη της σήμανσης των προϊόντων που παράγονται με τις τεχνικές Γενετικής Μηχανικής. Θα πρέπει δηλαδή να αναγράφεται στη συσκευασία τους ότι είναι γενετικά τροποποιημένα, καθώς και η σύσταση και η θρεπτική αξία τους. Στην Ευρώπη από το 1997 έχει δοθεί οδηγία στα κράτη-μέλη να υπάρχει σήμανση στα γενετικά τροποποιημένα προϊόντα. Αυτό δε συμβαίνει σε άλλες χώρες όπως οι Η.Π.Α. και η Ιαπωνία.

Για την απελευθέρωση γενετικά τροποποιημένων οργανισμών πρέπει να λαμβάνεται υπόψη και η ισορροπία στο περιβάλλον

Τόσο τα κράτη της Βόρειας Αμερικής όσο και της Ευρωπαϊκής Ένωσης έχουν θεσπίσει κανόνες με σκοπό τον έλεγχο της απελευθέρωσης των **Γενετικά Τροποποιημένων Οργανισμών** (ΓΤΟ, GEO: genetic engineered organisms) στο περιβάλλον. Μία περίπτωση κατά την οποία υπήρξε μεγάλη διχογνωμία αφορά τα γενετικά τροποποιημένα βακτήρια που προστατεύουν τα φυτά από τον παγετό. Το βακτήριο πριν από την τροποποίηση προσβάλλει πολλά φυτά και τα κάνει ευαίσθητα στον παγετό, επειδή παράγει μια πρωτεΐνη που προκαλεί το σχηματισμό κρυστάλλων σε χαμηλές θερμοκρασίες. Οι ερευνητές κατόρθωσαν να αφαιρέσουν από το βακτήριο το γονίδιο που παράγει τη συγκεκριμένη πρωτεΐνη. Όταν κάποια φυτά, όπως οι φράουλες, ψεκαστούν με τα τροποποιημένα βακτήρια γίνονται ανθεκτικά στον παγετό. Ύστερα από έντονη διαμάχη για τους κινδύνους από την απελευθέρωση ΓΤΟ στο περιβάλλον δόθηκε άδεια για τη χρησιμοποίησή τους.

Εικόνα 12.2 Στο άμεσο μέλλον είναι πιθανόν η τροφή μας να προέρχεται από γενετικά τροποποιημένους οργανισμούς.



Εικόνα 12.3 Φυτά σόγιας τα οποία ψεκάστηκαν με ζιζανιοκτόνο. Αριστερά ένα γενετικά τροποποιημένο φυτό ανθεκτικό στο ζιζανιοκτόνο και δεξιά φαίνονται φυσιολογικά φυτά.

Η πρώτη εντολή απελευθέρωσης χωρίς περιορισμούς ενός ΓΤΟ δόθηκε το 1994 στην Αγγλία και αφορούσε έναν τύπο ελαιοκράβης (*Brassica napus*), ο οποίος περιέχει γονίδια ανθεκτικά στο ζιζανιοκτόνο Basta. Με αυτό τον τρόπο θα μπορούν να καταπολεμηθούν στον αγρό τα ζιζάνια χωρίς να δημιουργείται πρόβλημα στην καλλιέργεια της ελαιοκράμβης. Η ελαιοκράμβη θα μπορούσε να γίνει «επικίνδυνη», επειδή θα μπορούσε να διασταυρωθεί με συγγενή είδη όπως το *Brassica campestris*, εξαπλώνοντας έτσι την ανθεκτικότητα στα ζιζανιοκτόνα στα άγρια φυτά. Ένα άλλο θέμα που προκύπτει είναι ότι η ανάπτυξη φυτών ανθεκτικών στα ζιζανιοκτόνα μπορεί να ενθαρρύνει τη χρήση μεγαλύτερων ποσοτήτων ζιζανιοκτόνων με συνέπεια την επιβάρυνση του περιβάλλοντος. Οικολογικές οργανώσεις εναντιώνονται στην απελευθέρωση της γενετικά τροποποιημένης ελαιοκράμβης.

Άλλοι γενετικά τροποποιημένοι οργανισμοί, ανθεκτικοί σε ασθένειες, σε ξηρασία ή σε άλλες δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες θα μπορούσαν να μεταφέρουν την ανθεκτικότητά τους στα αγριόχορτα (ζιζάνια), τα οποία, με την απουσία περιοριστικού παράγοντα, θα «καταλάβουν» τους αγρούς ταχύτατα. Έχουν γίνει χιλιάδες απελευθερώσεις διαγονιδιακών φυτών σε πολλές χώρες. Στην Κίνα, για παράδειγμα, καλλιεργείται γενετικά τροποποιημένος καπνός, ανθεκτικός στον ιό της μωσαϊκής του καπνού. Καμιά από τις απελευθερώσεις αυτές δεν έχει προκαλέσει μέχρι σήμερα αρνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον.

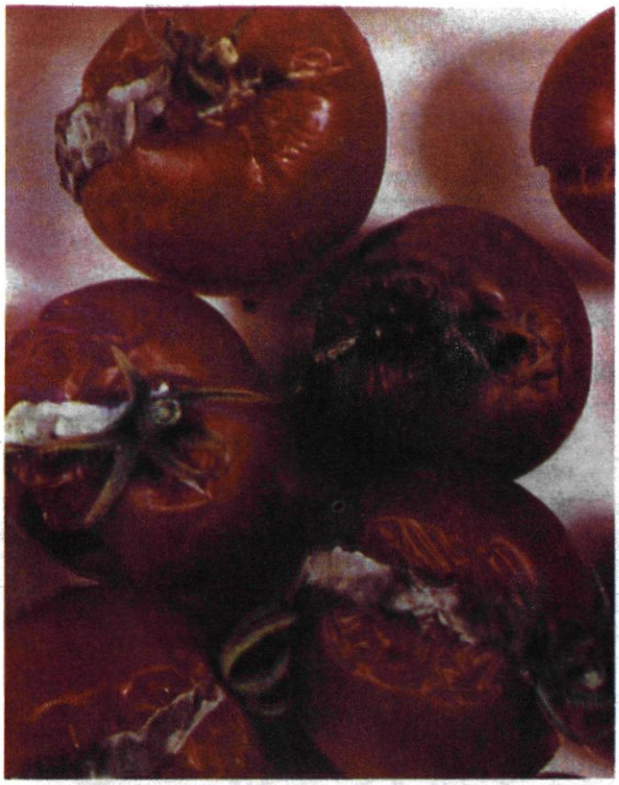
Οι γενετικά τροποποιημένοι σολομοί, που φτάνουν να έχουν βάρος τριάντα φορές μεγαλύτερο από αυτό του φυσιολογικού, μπορεί να αποτελούν μια σοβαρή απειλή. Τα ψάρια εκτρέφονται σε ιχθυοτροφεία και συνήθως δεν μπορούν να «δραπετεύσουν» στο φυσικό περιβάλλον. Εν τούτοις τα νεαρά μικρά ψάρια μπορεί να μεταφερθούν από τα πουλιά σε γειτονικά υδατικά οικοσυστήματα. Ακόμη και μεγαλύτερα ψάρια είναι γνωστό ότι έχουν διαφύγει. Αν οι γενετικά τροποποιημένοι σολομοί διαφύγουν στη θάλασσα υπάρχουν φόβοι ότι θα επηρεάσουν την ισορροπία των ήδη ευρισκόμενων σε κίνδυνο εξαφάνισης άγριων σολομών. Επίσης, θα μπορούσαν να επηρεάσουν την τροφική αλυσίδα με απρόβλεπτους τρόπους. Έχει αναφερθεί ότι περισσότερο από 90% των άγριων σολομών που ζουν στα ρεύματα της Σκωτίας προέρχονται από τους σολομούς που έχουν διαφύγει από τα ιχθυοτροφεία της Νορβηγίας. Έχουν αναφερθεί πολλά παραδείγματα από το παρελθόν κατά τα οποία νεοεισαγόμενα ζώα σε ένα οικοσύστημα προκαλούσαν μεγάλες οικολογικές καταστροφές, όπως για παράδειγμα τα κουνέλια που μεταφέρθηκαν από την Αγγλία στην Αυστραλία.

Έως και σήμερα έχουν δημιουργηθεί μια σειρά από ΓΤΟ, οι περισσότεροι από τους οποίους φυλάσσονται ακόμη στα εργαστήρια αλλά αρκετοί έχουν απελευθερωθεί. Σ' αυτούς περιλαμβάνονται γενετικά τροποποιημένα φυτά οικονομικής σημασίας, όπως είναι το βαμβάκι, η πατάτα, η σόγια, η ελαιοκράμβη, το ζαχαρότευτλο και το ρύζι.

Στη χώρα μας έχουν υποβληθεί πολλές αιτήσεις άδειας πειραματικής καλλιέργειας ΓΤΟ. Προς το παρόν έχει επιτραπεί η πειραματική καλλιέργεια σε τρεις ποικιλίες βαμβακιού, στο καλαμπόκι και στην τομάτα. Στην Ευρωπαϊκή Ένωση έχουν επιτραπεί πειραματικές καλλιέργειες ΓΤΟ από το 1995 για την τομάτα και από το 1996 για τη σόγια και για το καλαμπόκι.

Τα ζώα είναι ένα απλό επιστημονικό εργαλείο στα χέρια των ερευνητών;

Ο άνθρωπος πιστεύει ότι πρέπει να εκμεταλλεύεται τους υπόλοιπους οργανισμούς προς όφελός του. Εν τούτοις τα τελευταία χρόνια υπάρχει μια τάση να ξεπεραστεί αυτή η ανθρωποκεντρική άποψη της σχέσης του ανθρώπου με τα ζώα. Η παραγωγή διαγονιδιακών ζώων, που παράγουν μεγάλες ποσότητες αυξητικής ορμόνης, έχει δυσάρεστες επιπτώσεις στην υγεία των χοίρων και των προβάτων. Η παραγωγή της σωματοτροπίνης από αγελάδες προκαλεί διάφορες ασθένειες στα ζώα. Δεν έχουμε λάβει υπόψη μας ότι τα ζώα δεν είναι βιολογικά «σχεδιασμένα», για να υφίστανται την καταπόνηση της παραγωγής τεράστιων ποσοτήτων γάλακτος, κρέατος και άλλων προϊόντων. Ένα ενδιαφέρον παράδειγμα είναι ο Χέρμαν, ένας διαγονιδιακός ταύρος που γεννήθηκε στην Ολλανδία το 1990. Ο Χέρμαν περιέχει ένα γονίδιο, το οποίο όταν περάσει στους θηλυκούς απογόνους του, παράγει στο γάλα τους την πρωτεΐνη του ανθρώπινου γάλακτος, τη λακτοφερίνη. Οικολογικές ομάδες που μάχονται υπέρ της προστασίας του περιβάλλοντος απείλησαν να μποϋκοτάρουν τις εταιρίες που υποστήριζαν τη μελέτη αυτή. Ο τρόπος ανάπτυξης των ζώων που χρειάζονται για τη διατροφή μας



Εικόνα 12.4 Οι τομάτες στο πάνω τμήμα της φωτογραφίας ανήκουν στην ίδια ποικιλία με αυτές κάτω και έχουν συλλεγεί ταυτόχρονα. Οι γενετικά τροποποιημένες έχουν καλύτερη εμφάνιση επειδή έχουν γονίδιο που τους δίνει τη δυνατότητα να διατηρούνται για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.

και για την παραγωγή φαρμακευτικών προϊόντων πρέπει να λαμβάνει υπόψη την ποιότητα ζωής των ζώων.

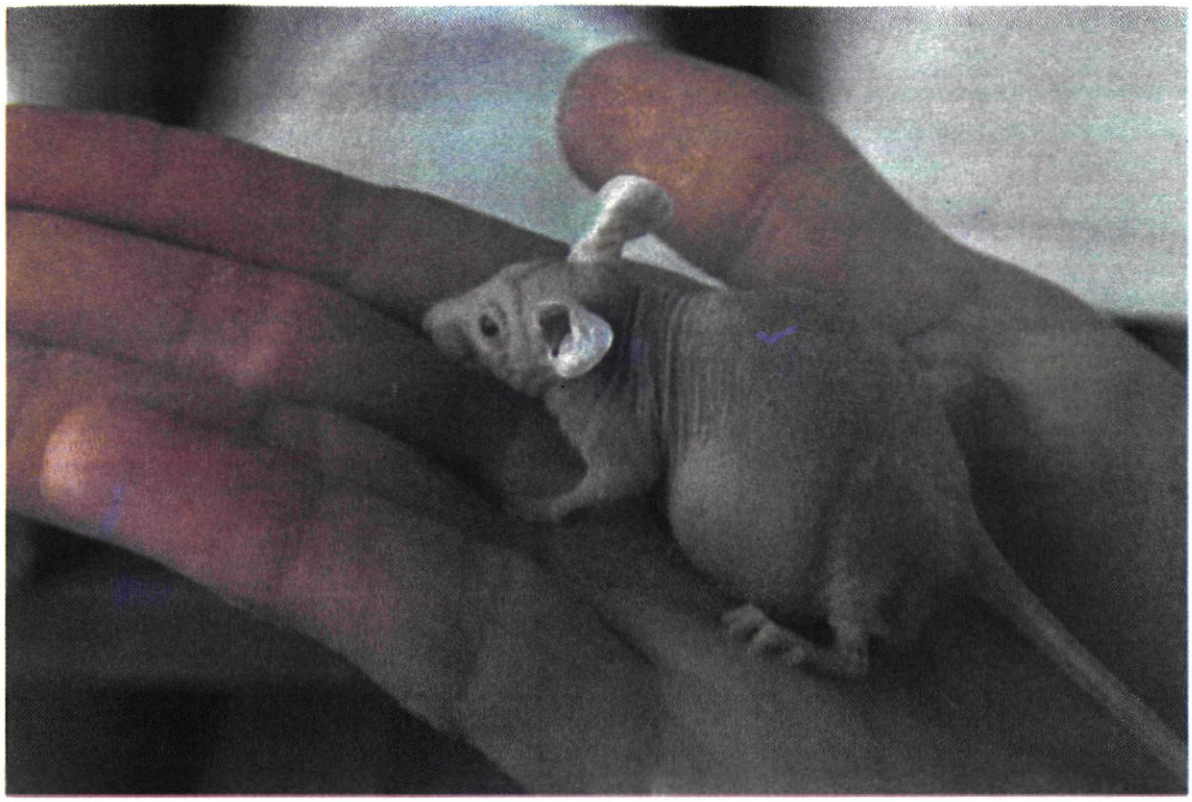
Γενικά, τα ιατρικά πειράματα προκαλούν μεγάλο πόνο στα ζώα. Χαρακτηριστικό είναι το παράδειγμα ενός διαγονιδιακού ποντικού (Harvard mouse) στον οποίο προστέθηκε ένα γονίδιο που προκαλεί καρκίνο. Ο ποντικός αυτός αναπτύσσει καρκίνους πολύ πιο συχνά από τους κανονικούς ποντικούς και χρησιμοποιείται ως οργανισμός-μοντέλο για τη μελέτη του καρκίνου.

Μπορεί η ανακάλυψη ενός γονιδίου να αποτελέσει πνευματική ιδιοκτησία;

Το 1980 το Ανώτατο Δικαστήριο των Η.Π.Α. (με ψήφους 5 υπέρ έναντι 4 κατά) παραχώρησε δικαιώματα ευρεσιτεχνίας για ένα βακτήριο που έχει την ικανότητα να διασπά το ακατέργαστο πετρέλαιο. Η αιτιολογία ήταν ότι για οτιδήποτε υπάρχει κάτω από τον ήλιο και κατασκευάζεται από ανθρώπινα χέρια μπορεί να παραχωρηθεί δίπλωμα ευρεσιτεχνίας. Το 1985 δίδεται δίπλωμα ευρεσιτεχνίας για γενετικά τροποποιημένο φυτό και τρία χρόνια αργότερα για έναν ποντικό γενετικά τροποποιημένο. Ο ποντικός αυτός περιείχε στο γονιδίωμά του ανθρώπινα ογκογονίδια και ογκογονίδια από άλλους οργανισμούς και χρησιμοποιήθηκε στην έρευνα για τον καρκίνο ως «ζωντανός δοκιμαστικός σωλήνας». Η δημιουργία του ποντικού αυτού κατοχυρώθηκε νομικά το 1992 και από το Ευρωπαϊκό Γραφείο Πατέντας (Europaisches Patentamt, EPA) με δίπλωμα ευρεσιτεχνίας. Αυτό θεωρήθηκε ανήθικο γιατί υποβιβάζει τον οργανισμό στο επίπεδο του πράγματος.

Τελικά, είναι λογικό να δίνονται διπλώματα ευρεσιτεχνίας για τους ζωντανούς οργανισμούς ή για τα γονίδιά τους; Μπορεί, με άλλα λόγια να εφευρεθεί ένα γονίδιο όπως ο τροχός ή το τηλέφωνο; Μία καταφατική απάντηση στην παραπάνω ερώτηση έχει, εκτός από ηθικές, και οικονομικές παραμέτρους. Όποιος, για παράδειγμα, κατέχει τα δικαιώματα για κάποιο γονίδιο μπορεί ταυτόχρονα να το εκμεταλλευθεί οικονομικά, παράγοντας τεστ για την ανίχνευσή του ή φάρμακα για την ασθένεια την οποία αυτό προκαλεί. Αναλογιστείτε μόνο το οικονομικό όφελος από την αποκλειστική εμπορική εκμετάλλευση γονιδίου υπεύθυνου για την εμφάνιση κάποιας μορφής καρκίνου. Αντίστοιχα, μπορεί να γίνει αποκλειστική εμπορική εκμετάλλευση ενός ΓΤΟ, όπως ενός βακτηρίου που μπορεί να διασπά τοξικές ουσίες ή μιας αγελάδας που παράγει στο γάλα της μία χρήσιμη πρωτεΐνη όπως η ινσουλίνη.

Εκτός από τις οικονομικές παραμέτρους υπάρχουν και άλλα περισσότερο βασικά ερωτήματα. Είναι δηλαδή τα γονίδια απλώς και μόνο βιολογικό υλικό, που το χειριζόμα-



Εικόνα 12.5 Το ποντίκι της φωτογραφίας χρησιμοποιείται για την παραγωγή μονοκλωνικών αντισωμάτων.

στε σαν οποιοδήποτε πράγμα, ή κάτι περισσότερο; Υπάρχει στα γονίδια κάτι ουσιώδες ανθρώπινο, δηλαδή ένα κομματάκι του ποιοι και τι είμαστε;

Παρ' όλα αυτά τα διλήμματα το Γραφείο Πατέντας των Η.Π.Α. εξακολουθεί να καλύπτει νομικά εταιρίες και να τους δίνει το μονοπώλιο μεγάλων περιοχών της Βιοτεχνολογίας, και μεγάλων ομάδων οργανισμών. Στην Ευρώπη τα πράγματα είναι τελείως διαφορετικά. Μια συμφωνία που έγινε μεταξύ 17 κρατών, το 1961, επέτρεπε σε παραγωγούς να έχουν στην κατοχή τους ορισμένες ποικιλίες, που είχαν παραχθεί με διασταυρώσεις, και τις οποίες αναπαρήγαγαν χωρίς την άδεια του κατόχου της πατέντας. Το 1973 η Ευρωπαϊκή Κοινότητα απαγόρευσε τις πατέντες ζώων και φυτών. Το 1988 υποβλήθηκε ένα κείμενο, που ζητούσε από το Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο την εναρμόνιση των θεμάτων της νομικής προστασίας ευρεσιτεχνιών σχετικών με βιολογικές ανακαλύψεις σε όλα τα Ευρωπαϊκά Κράτη. Σύμφωνα με το κείμενο αυτό απαγορεύονταν οι πατέντες για το ανθρώπινο γενετικό υλικό και τις γονιδιακές θεραπείες, αλλά εταιρίες μπορούσαν να έχουν τα δικαιώματα σε ζώα και φυτά. Επίσης, απαγόρευε στους καλλιεργητές να αναπαράγουν ελεύθερα τα πατενταρισμένα ζώα και φυτά. Το 1995, η Ευρωπαϊκή Κοινότητα υπέβαλε προς το Ευρωπαϊκό Κοινοβούλιο νέα πρόταση, σύμφωνα με την οποία δεν επιτρέπεται η κατοχύρωση νέων γενετικά τροποποιημένων ποικιλιών φυτών η ζώων, καθώς και κανενός φυσικού ιστού ή κυττάρου ή και γονιδίου του ανθρώπου. Η νέα οδηγία 44/98 έγινε δεκτή και έχει δημοσιευτεί στο φύλλο της ευρωπαϊκής εφημερίδας 213/13-30/7/98. Τα κράτη-μέλη είχαν περιθώριο έως την 30η Ιουλίου 2000, για να εναρμονίσουν τη νομοθεσία τους με την κοινοτική οδηγία. Εν τω μεταξύ το Ευρωπαϊκό Γραφείο Πατέντας εγκρίνει διπλώματα ευρεσιτεχνίας για ανακαλύψεις Γενετικής Μηχανικής συμπεριλαμβανομένων και γονιδίων του ανθρώπου.

Ένας ασθενής που άξιζε εκατομμύρια δολάρια

Στο τέλος της δεκαετίας του 70 ο ιατρός W. Golde, που εργαζόταν στο Πανεπιστήμιο της Καλιφόρνια, απομόνωσε καρκινικά κύτταρα από τη σπλήνα του ασθενή του J. Moore. Από τα κύτταρα αυτά καθιέρωσε μία κυτταρική σειρά, η οποία μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για πειράματα. Το 1984 ο W. Golde και το Πανεπιστήμιο πήραν πατέντα για την κυτταρική αυτή σειρά. Μετά από μερικά χρόνια πούλησαν, με αντίτιμο μερικά εκατομμύρια δολάρια, την πατέντα σε ιδιωτική εταιρία. Ο ασθενής J. Moore μήνυσε χωρίς επιτυχία τον γιατρό και το Πανεπιστήμιο.

Ηθικές και κοινωνικές προεκτάσεις από την ανάπτυξη της Βιοτεχνολογίας

Πολλά ηθικά προβλήματα δημιουργούνται από ορισμένες εφαρμογές της Βιοτεχνολογίας ιδιαίτερα στον άνθρωπο:

Γονιδιακή θεραπεία

Η γονιδιακή θεραπεία χρησιμοποιεί πειραματικές τεχνικές με σκοπό τη «διόρθωση» γενετικής βλάβης που προκαλείται από ένα μεταλλαγμένο γονίδιο σε έναν οργανισμό. Αυτή επιτυγχάνεται με εισαγωγή του φυσιολογικού γονιδίου στα κύτταρα στα οποία προκαλείται η βλάβη. Η γονιδιακή θεραπεία ονομάζεται «γονιδιακή θεραπεία σωματικής σειράς», επειδή η εισαγωγή του φυσιολογικού γονιδίου γίνεται σε σωματικά κύτταρα του οργανισμού. Η γονιδιακή θεραπεία μπορεί να εφαρμοστεί και στα γεννητικά κύτταρα του ασθενούς (γονιδιακή θεραπεία γεννητικής σειράς). Στην περίπτωση αυτή η αλλαγή θα μεταβιβαστεί στους απογόνους.

Τα ηθικά προβλήματα που προκύπτουν από τη γονιδιακή θεραπεία συνδέονται αφ' ενός με το σεβασμό της ανθρώπινης οντότητας και αφ' ετέρου με την ύπαρξη κινδύνου επιπλοκών. Για τους λόγους αυτούς η γονιδιακή θεραπεία πρέπει να περιορίζεται σε ασθένειες για τις οποίες δεν υπάρχει άλλη αποτελεσματική θεραπευτική αγωγή. Σήμερα επιτρέπεται μόνο η γονιδιακή θεραπεία σωματικής σειράς, ενώ η γονιδιακή θεραπεία γεννητικής σειράς σε ανθρώπους δεν είναι ακόμα ηθικά αποδεκτή.

Πρόγραμμα του ανθρώπινου γονιδιώματος: Με την αποκρυπτογράφηση του γονιδιώματος ο άνθρωπος γίνεται διαφανής

Έως και σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί περίπου 500 γονίδια, που σχετίζονται με γενετικές ασθένειες. Για πολλά από αυτά έχουν ήδη παρασκευαστεί τεστ, τα οποία χρησιμοποιούνται για την ανίχνευσή τους. Σε μικρό χρονικό διάστημα, με την αλματώδη πρόοδο της επιστήμης και της τεχνολογίας, θα είμαστε σε θέση να διαπιστώσουμε, σχετικά απλά και σύντομα, πόσα και ποια από τα 40.000 περίπου γονίδιά μας είναι φυσιολογικά ή όχι. Θα πρέπει να υπάρχουν άραγε κανόνες, που θα καθορίζουν την πραγματοποίηση τέτοιων εξετάσεων;

Σήμερα γίνονται προσπάθειες, για να θεσπιστούν κάποιοι. Αρχική προϋπόθεση για την πραγματοποίηση γενετικών εξετάσεων είναι το να πραγματοποιούνται σε εθελοντική βάση. Ο εξεταζόμενος πρέπει να γνωρίζει τα πλεονεκτήματα και τους κινδύνους μιας γενετικής εξέτασης όπως και το είδος των πληροφοριών που προκύπτουν από αυτή. Με αυτό τον τρόπο θα είναι σε θέση να πάρει απόφαση σχετικά με το εάν θέλει να υποβληθεί σε μία εξέταση ή εάν επιθυμεί να τη συνεχίσει. Για παράδειγμα, πρέπει μία έγκυος να γνωρίζει ότι η πραγματοποίηση προγεννητικού ελέγχου με αμνιοπαρακέντηση έχει περίπου 0.1% πιθανότητα να οδηγήσει σε αποβολή του κυοφορούμενου εμβρύου. Το στοιχείο αυτό πρέπει να λαμβάνεται υπόψη πριν αυτή αποφασίσει να υποβληθεί σ' αυτή την εξέταση.

Μία δεύτερη προϋπόθεση είναι ότι οι πληροφορίες που συγκεντρώνονται από τέτοιου είδους εξετάσεις πρέπει να είναι εμπιστευτικές. Σ' αυτές δεν πρέπει να έχουν πρόσβαση, εκτός περιπτώσεων στις οποίες συγκατατίθεται ο εξεταζόμενος, άτομα της οικογένειάς του, ερευνητές, εργοδότες, ασφαλιστικοί οργανισμοί. Είναι προφανές ότι η δημοσιοποίηση της πληροφορίας για την ανίχνευση του γονιδίου BRCA1, που σχετίζεται με την ανάπτυξη μικρού ποσοστού των καρκίνων του μαστού στις γυναίκες, θα έχει σημαντικές επιπτώσεις στην προσωπική, κοινωνική και επαγγελματική ζωή μιας γυναίκας. Οι πληροφορίες αυτές μπορούν να χρησιμοποιηθούν, για παράδειγμα από τους εργοδότες, για να αποφασίσουν ή όχι την πρόσληψη ή την προαγωγή ατόμου που πάσχει. Αντίστοιχα, μπορούν να χρησιμοποιηθούν από ασφαλιστικές εταιρείες, για να αποφασίσουν αν θα προσφέρουν ασφαλιστική κάλυψη. Τέλος, οι πληροφορίες αυτές μπορούν να καθορίσουν τη συμπεριφορά των ατόμων του κοινωνικού ή ακόμη και του συγγενικού περιβάλλοντος. Η κοινοποίηση λοιπόν της «γονιδιακής ταυτότητας» των ατόμων μπορεί να οδηγήσει σε φαινόμενα κοινωνικού αποκλεισμού, διαχωρίζοντας τους υποψήφιους ασθενείς από τα φυσιολογικά άτομα. Θα πρέπει να γνωρίζουμε ότι οι έννοιες φυσιολογικός και υγιής έχουν χάσει μέρος από τη σημασία τους, αφού υπολογίζεται ότι ο καθένας μας φέρει τουλάχιστον τέσσερα έως οκτώ μεταλλαγμένα γονίδια τα οποία ενδέχεται να παρέμβουν στη ζωή μας ή σε αυτή των απογόνων μας.

Προγεννητική διάγνωση

Σήμερα είναι δυνατή η ακριβής προγεννητική διάγνωση γενετικών ασθενειών στο έμβρυο με μια σειρά πολύ εξελιγμένων τεχνικών. Σοβαρά ηθικά ερωτήματα προκύπτουν από τον κίνδυνο της κακής χρήσης της προγεννητικής διάγνωσης, αφού αυτή μπορεί να χρησιμοποιηθεί και για θέματα που δεν σχετίζονται με την υγεία, όπως η δυνατότητα επιλογής φύλου ή χαρακτηριστικών του εμβρύου, όπως το χρώμα των ματιών. Οι βασικές ηθικές αρχές της προγεννητικής διάγνωσης συνοψίζονται ως εξής:

Ο προγεννητικός έλεγχος δεν μπορεί να επιβάλλεται νομοθετικά ή από δημόσιες υπηρεσίες υγείας, από ιδρύματα ή από πρόσωπα. Μπορεί να γίνεται μόνο με την ελεύθερη συγκατάθεση της μέλλουσας μητέρας ή του ζευγαριού και ύστερα από ενημέρωσή τους από εξειδικευμένα άτομα. Η προγεννητική διάγνωση είναι μια ιατρική πράξη, στην οποία τηρούνται συγκεκριμένοι κανόνες, όπως η διασφάλιση του απορρήτου των αποτελεσμάτων των εξετάσεων. Στη χώρα μας η προγεννητική διάγνωση εφαρμόζεται για τη μεσογειακή αναιμία, για τις χρωμοσωμικές ανωμαλίες, για την κυστική ίνωση, για την αιμορροφιλία, για τις μυοπάθειες κ.ά.

Σκεφθείτε

Με ποιο τρόπο και σε τι βαθμό θα έπαιζε ρόλο στην προσωπική και κοινωνική ζωή ενός ατόμου η κοινοποίηση της πληροφορίας ότι φέρει γονίδιο ή γονίδια που σχετίζονται με προδιάθεση ανάπτυξης κάποιας γενετικής ασθένειας;

Θέσπιση κανόνων

Οι πιθανές κοινωνικές επιπτώσεις, αποτέλεσμα των ραγδαίων εξελίξεων στους τομείς της Βιολογίας και της Ιατρικής, δημιούργησαν την ανάγκη θέσπισης κανόνων, οι οποίοι καθορίζουν τον τρόπο εφαρμογής των επιτευγμάτων της Επιστήμης. Έτσι κράτη και διάφοροι διεθνείς οργανισμοί συνέστησαν επιτροπές με αντικείμενο:

- Τη μελέτη των πιθανών επιπτώσεων από την ανάπτυξη εφαρμογών της Βιολογίας και
- Τη σύνταξη κανόνων δεοντολογίας.

Συγκεκριμένα τα κράτη-μέλη του Συμβουλίου της Ευρώπης συνέταξαν (Oviedo, 1997) Σύμβαση για την «Προστασία των δικαιωμάτων και της αξιοπρέπειας του ανθρώπινου όντος σε σχέση με τις εφαρμογές της Βιολογίας και της Ιατρικής». Η Συνθήκη αυτή πραγματεύεται σειρά θεμάτων όπως η ιδιωτική ζωή και το δικαίωμα στην πληροφόρηση, το ανθρώπινο γονιδίωμα, η επιστημονική έρευνα. Μεταξύ των άλλων τα κράτη-μέλη του Συμβουλίου της Ευρώπης συμφώνησαν ότι:

> «Κάθε άτομο έχει το δικαίωμα να γνωρίζει οποιαδήποτε πληροφορία αφορά την υγεία του» (Άρθρο 10).

> «Απαγορεύεται κάθε είδους διάκριση εναντίον ατόμου με βάση τα κληρονομικά του χαρακτηριστικά» (Άρθρο 11).

> «Οι εξετάσεις, οι οποίες σχετίζονται με την πρόγνωση γενετικών ασθενειών και χρησιμοποιούνται για τον εντοπισμό ατόμων φορέων γονιδίων υπευθύνων για γενετικές ασθένειες ή για την ανίχνευση της γενετικής προδιάθεσης για ασθένειες, πρέπει να πραγματοποιούνται μόνο για σκοπούς υγείας ή επιστημονικής έρευνας σχετιζόμενης με θέματα υγείας...» (Άρθρο 12).

Η Σύμβαση αυτή επεκτάθηκε, με την προσθήκη άρθρων για θέματα τα οποία αφορούν την κλωνοποίηση του ανθρώπου (Παρίσι, 1998). Έτσι σύμφωνα με τη Σύμβαση:

> «Απαγορεύεται οποιαδήποτε παρεμβολή με σκοπό τη δημιουργία ανθρώπινου όντος γενετικά όμοιου με άλλο ανθρώπινο ον ζωντανό ή νεκρό» (Άρθρο 1).

Εκτός από το Συμβούλιο της Ευρώπης και άλλοι διεθνείς οργανισμοί έχουν διατυπώσει αρχές με βάση τις οποίες πρέπει να γίνεται η εφαρμογή των επιτευγμάτων της Βιολογίας. Η UNESCO διατύπωσε τη «Διακήρυξη για το Ανθρώπινο Γονιδίωμα και τα Ανθρώπινα Δικαιώματα». Στα άρθρα της διακήρυξης αναφέρεται μεταξύ των άλλων ότι:

> «Κάθε άτομο έχει το δικαίωμα σεβασμού της αξιοπρέπειάς του ανεξάρτητα από τα γενετικά του χαρακτηριστικά» (Άρθρο 2).

> «Η ενημέρωση για τα αποτελέσματα γενετικών εξετάσεων, όπως επίσης και για τις επακόλουθες επιπτώσεις, επαφίεται στην ελεύθερη βούληση του κάθε εξεταζόμενου».

Είναι λοιπόν φανερό ότι οι κυβερνήσεις σε συνεργασία με τους διεθνείς οργανισμούς και την επιστημονική κοινότητα προσπαθούν να βρουν τρόπους για να εμποδίσουν τη δίχως έλεγχο επιστημονική έρευνα και εφαρμογή των επιτευγμάτων της. Φαίνεται να είναι γενικά αποδεκτό ότι η προστασία της ανθρώπινης αξιοπρέπειας και συνολικά των ανθρωπίνων δικαιωμάτων προηγείται έναντι οποιασδήποτε εφαρμογής της Βιολογίας και της Ιατρικής. Όπως χαρακτηριστικά αναφέρεται στη σχετική διακήρυξη της UNESCO:

> «Καμία έρευνα ή έρευνα των εφαρμογών που αφορά το ανθρώπινο γονιδίωμα δε μπορεί να υπερισχύσει των θεμελιωδών ελευθεριών και της αξιοπρέπειας του ατόμου». (Άρθρο 10).

Ερωτήσεις

1. Στα ποντίκια μπορούν να εισαχθούν γονίδια, που προκαλούν καρκίνο, κυστική ίνωση και άλλες ασθένειες. Με τον τρόπο αυτό μπορούν να ελεγχθούν πιθανές θεραπείες για τις συγκεκριμένες ασθένειες. Νομίζετε ότι αυτό είναι σκληρό για τα ζώα και ότι πρέπει να απαγορευτεί;

2. Στις ημέρες μας υπάρχει αντίδραση από την κοινή γνώμη στη χορήγηση αυξητικής ορμόνης σε αγελάδες με σκοπό τη μεγαλύτερη παραγωγή γάλακτος. Η κοινή γνώμη εναντιώνεται επίσης στη δημιουργία γενετικά τροποποιημένης τομάτας η οποία, επειδή δεν έχει ένα γονίδιο, ωριμάζει με αργότερο ρυθμό. Νομίζετε ότι οι φόβοι του κοινού για τις εφαρμογές της Γενετικής Μηχανικής είναι δικαιολογημένοι;

3. Ας υποθέσουμε ότι ήταν δυνατό με τεχνικές της Γενετικής Μηχανικής να γίνονται οι άνθρωποι πιο έξυπνοι. Νομίζετε ότι κάτι τέτοιο θα έπρεπε να επιτραπεί;

4. Υπάρχουν επιστήμονες που εκφράζουν ανησυχίες για την πιθανή απελευθέρωση στο περιβάλλον βακτηρίων, που χρησιμοποιούνται σε πειράματα Γενετικής Μηχανικής. Ποιες νομίζετε ότι θα ήταν οι συνέπειες από μία τέτοια ενέργεια;

5. Είναι δυνατή η μεταφορά σε φυτά γονιδίων που προσφέρουν σε αυτά αντίσταση σε ζιζανιοκτόνα ή γονιδίων που παράγουν ουσίες οι οποίες σκοτώνουν έντομα. Ποια νομίζετε ότι είναι τα πλεονεκτήματα και τα μειονεκτήματα από τη δημιουργία τέτοιων φυτών;

6. Συζητήστε τις θετικές και τις αρνητικές συνέπειες του προγράμματος του ανθρώπινου γονιδιώματος.

Εργασίες - Δραστηριότητες

Ο κύριος Χ είναι στέλεχος σε μία επιχείρηση. Συγκεντρώνει πολλά τυπικά προσόντα και είναι, με διαφορά, ο καταλληλότερος υποψήφιος για την κατάληψη της θέσης του Διευθύνοντος Συμβούλου στην εταιρία. Είναι τριανταπέντε ετών και απόλυτα υγιής. Τυχαία ανακαλύπτει ότι φέρει το γονίδιο για την ασθένεια Huntigton. Αυτό σημαίνει ότι, με 60% πιθανότητα, στα επόμενα δέκα χρόνια η θανατηφόρος ασθένεια θα εκδηλωθεί.
Ας υποθέσουμε ότι είσαστε ο επικεφαλής της επιτροπής για την επιλογή του Διευθύνοντος Συμβούλου και μαζί με τα βιογραφικά των υποψηφίων λαμβάνετε γνώση για το πρόβλημα που αντιμετωπίζει ο κύριος Χ. Ποια θα ήταν η θέση σας σχετικά με την τοποθέτησή του στη θέση του Διευθύνοντος Συμβούλου;